



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**VLIV POUŽITÉHO OLEJE NA SLOŽENÍ A
SENZORICKOU KVALITU SÝROVÝCH ANALOGŮ**

INFLUENCE OF OIL USED ON COMPOSITION AND SENSORY QUALITY OF CHEESE
ANALOGUES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Martin Buldra

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1424/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Bc. Martin Buldra**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Vliv použitého oleje na složení a senzorickou kvalitu sýrových analogů

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - charakteristika, složení a vlastnosti sýrových analogů
 - technologie výroby
 - charakteristika, složení a vlastnosti vybraných ořechových olejů
 - aromaticky aktivní látky, volné a vázané mastné kyseliny v olejích, sýrech a sýrových analogích
 - možnosti stanovení aromaticky aktivních látek a mastných kyselin v sýrech a sýrových analogích
 - princip, provedení, přehled aplikací
 - možnosti senzorického hodnocení sýrů a sýrových analogů – přehled aplikací
2. Vytvořte modelové vzorky sýrových analogů s přídavkem ořechových olejů
3. Pomocí metody HS–SPME–GC–MS identifikujte a kvantifikujte těkavé látky ve vyrobených vzorcích analogů
4. Pomocí metody GC–FID identifikujte a kvantifikujte volné a vázané masné kyseliny ve vyrobených vzorcích analogů
5. Pomocí vybraných senzorických metod zhodnoťte senzorickou kvalitu vyrobených analogů
6. Posuďte vliv použitého oleje na složení a senzorickou kvalitu vzorků analogů

Termín odevzdání diplomové práce: 29.5.2020:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Martin Buldra
student(ka)

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá výrobou a charakterizací sýrových analogů, tj. výrobků, v nichž je úplně nebo částečně nahrazena některá z mléčných komponent nemléčnou složkou.

Modelové vzorky, sýr eidamského typu a analog s přídavkem lískoořechového oleje, byly vyrobeny standardním technologickým postupem na Mendelu v Brně.

Jako hlavní charakterizující parametry kvality vzorků byly vybrány a sledovány volné a vázané mastné kyseliny, těkavé (aromatické) látky a senzorická kvalita. Cílem bylo posoudit vliv přidaného ořechového oleje na sledované parametry.

Pro identifikaci a semikvantifikaci těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS. Extrakce tuků ze vzorku byla provedena směsí rozpouštědel (diethylether, petrolether), mastné kyseliny byly identifikovány a kvantifikovány metodou GC-FID po převedení na methylestery kyselou esterifikací methanolickým roztokem bortrifluoridu jako katalyzátoru. Pro senzorické hodnocení vzhledu, barvy, textury, vůně, chuti a celkové přijatelnosti vzorku byly použity popisné stupnice a srovnání se standardem, struktura byla sledována pomocí elektronové mikroskopie.

Z výsledků vyplývá, že přídavek lískoořechového oleje ovlivňuje senzorické vlastnosti, průběh zrání (vyšší obsah těkavých látek, rychlejší lipolýza), nutriční hodnotu (vyšší obsah nenasyčených mastných kyselin) a stabilitu produktu.

ABSTRACT

This paper deals with the manufacture and characterisation of cheese analogues, which are products, where the milk components are totally or partially replaced by non-milk components.

Model samples, edam type cheese and the analogue containing hazelnut oil, were manufactured using the standard way at Brno Mendelu.

The main parameters chosen to describe the quality of samples were free and bound fatty acids, volatile compounds and sensory quality. The main aim was to judge the influence of added hazelnut oil on mentioned parameters.

For the identification and semiquantification of volatile compounds HS-SPME-GC-MS method was used. Fat extraction from sample was made with a mixture of two solvents (diethylether, petrolether), fatty acids were identified and quantified by GC-FID, with their former acid transesterification using methanolic solution of BF_3 as a catalyst. For sensory analysis of the appearance, colour, texture, aroma, taste and overall acceptance of the sample descriptive scales and comparison with standard were used, the structure was observed by electron microscopy.

The results show that addition of hazelnut oil affects the sensory properties, ripening process (higher amount of volatile compounds, faster lipolysis), nutrition value (higher amount of unsaturated fatty acids), and the stability of the product.

KLÍČOVÁ SLOVA

sýrové analogy, ořechové oleje, aromatické látky, MK, SPME, GC-FID/MS

KEY WORDS

cheese analogues, nut oils, aroma compounds, FA, SPME, GC-FID/MS

CITACE

BULDRA, Martin. Vliv použitého oleje na složení a senzorickou kvalitu sýrových analogů [online]. Brno, 2020 [cit. 2020-05-21]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124107>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
Podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych rád poděkoval paní doc. Evě Vítové, Ph. D. za její čas, pevné nervy, odborné vedení, rady a v neposlední řadě konzultace, které pro mě i přes distanční charakter byly velmi důležité. Dále chci vyjádřit velký dík paní Ing. Aleně Salákové, Ph. D. z Mendelu v Brně, díky které jsme si mohli vyzkoušet výrobu sýra vlastníma rukama. Nebýt jejího vedení při samotné výrobě a její péče o hotové výrobky, nevím, jak by celý projekt dopadl. Za spolupráci bych chtěl poděkovat i firmě Thermo Fisher Scientific Brno s. r. o., která nám poskytla snímky našich modelových vzorků z elektronového mikroskopu. V další řadě si nemalý dík zaslouží kolegové, kolegyně, přátelé, laborantky, zkrátka všichni, se kterými jsem se potkával v laboratoři a kteří mi pomohli udržet si dobrou náladu i přes občasné stávky techniky. Na závěr chci moc poděkovat mé rodině, která mě ve studiu až do konce podporovala, držela palce a vysílala pozitivní vlny.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Sýrové analogy	9
2.1.1	Dělení sýrových analogů.....	9
2.2	Klasické sýry – technologie výroby.....	10
2.2.1	Předběžné technologické operace.....	11
2.2.2	Přídavek kyselých kultur	12
2.2.3	Koagulace mléka	12
2.2.4	Zpracování sýřeniny	13
2.2.5	Formování	13
2.2.6	Solení	14
2.2.7	Zrání.....	15
2.3	Mléčný tuk.....	16
2.4	Aromaticky aktivní látky v eidamských sýrech a sýrových analozích.....	18
2.5	Mastné kyseliny v eidamských sýrech a sýrových analozích	20
2.6	Lískové ořechy	21
2.6.1	Extrakce a výroba lískoořechového oleje	21
2.6.2	Charakteristika lískoořechového oleje.....	23
2.7	Používané metody a experimentální postupy.....	26
2.7.1	Stanovení těkavých (aromatických) látek	26
2.7.2	Stanovení vázaných a volných mastných kyselin.....	27
2.7.3	Základní tukové charakteristiky	28
2.7.4	Senzorické hodnocení sýrů a sýrových analogů.....	28
2.7.5	Elektronová mikroskopie	31
3	Experimentální část.....	34
3.1	Použité laboratorní vybavení a chemikálie	34
3.1.1	Laboratorní přístroje	34
3.1.2	Laboratorní pomůcky.....	34
3.1.3	Chemikálie pro kyselou esterifikaci	34
3.1.4	Chemikálie pro extrakci tuku	34
3.1.5	Chemikálie pro základní tukové charakteristiky	35
3.1.6	Chemikálie pro stanovení mastných kyselin.....	35
3.1.7	Plyny pro plynový chromatograf.....	35
3.2	Analyzované vzorky	35

3.3	Použité metody a experimentální postupy	35
3.3.1	Stanovení základních tukových charakteristik	35
3.3.2	Stanovení volných a vázaných mastných kyselin.....	37
3.3.3	Stanovení těkavých (aromatických) látek	41
3.3.4	Senzorické hodnocení	41
3.3.5	Elektronová mikroskopie	42
3.4	Statistické vyhodnocení výsledků.....	42
4	Výsledky a diskuze	43
4.1	Výroba modelových vzorků	43
4.1.1	Tukové charakteristiky použitého lískoořechového oleje.....	45
4.2	Obsah sušiny a tuku v sušině ve vzorcích.....	46
4.3	Těkavé (aromatické) látky v modelových vzorcích sýrů/analogů.....	46
4.3.1	Srovnání počtu identifikovaných látek ve vzorcích.....	48
4.3.2	Srovnání obsahu identifikovaných látek ve vzorcích	49
4.4	Volné a vázané mastné kyseliny v modelových vzorcích sýrů/analogů.....	56
4.4.1	Přehled identifikovaných mastných kyselin ve vzorcích.....	56
4.4.2	Srovnání obsahu vázaných mastných kyselin ve vzorcích	59
4.4.3	Srovnání obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích	61
4.5	Senzorická kvalita modelových vzorků sýrů/analogů	63
4.6	Struktura modelových vzorků sýrů/analogů	70
5	Závěr	74
6	Seznam literárních zdrojů.....	76
7	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	81
8	Seznam příloh.....	82
9	Přílohy.....	83

1 ÚVOD

Sýry tvoří neodmyslitelnou součást jídelníčku v mnoha kulturách. Jsou symbolem tradiční výroby a mnohdy představují typický výrobek dané země. Jen těžko bychom si mohli představit Holandsko bez eidamu a goudy, Itálii bez parmazánu, ricotty a mozzareilly, Švýcarsko bez ementálu, nebo Anglii bez čedaru.

Jelikož jsou tyto sýry vyrobeny z mléka, představují i jisté zdravotní riziko, a to hlavně kvůli obsahu nasycených mastných kyselin, které mohou mít při zvýšené konzumaci negativní dopady na zdraví člověka. Určitým technologickým postupem je možné nahradit část nebo i celý mléčný tuk jinou složkou. Bohužel vzestup této technologie nebyl motivovaný lidským zdravím, ale spíše ekonomickou stránkou. Tím vznikly levnější náhražky sýra, tzv. sýrové analogy, ve kterých byl mléčný tuk nahrazen například rostlinným olejem.

Proč ale nezkusit vyrobit sýrový analog, který by byl obohacen o mono- a polynenasycené mastné kyseliny a zároveň byl senzoricky přijatelný a konzumenty přijímaný? Proč k výrobě sýrového analogu nezkusit použít kvalitní a čerstvý olej, který by mohl například podtrhnout pro některé sýry typické ořechové aroma? Zmíněné otázky daly vzniknout této diplomové práci, jejímž cílem bylo vyrobit sýrové analogy s přídavkem lískoořechového oleje a posoudit jeho vliv na složení a senzorickou kvalitu produktu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Tato práce je zaměřena na charakterizaci modelových vzorků tzv. sýrových analogů, vyrobených s přidavkem vybraného druhu ořechového oleje, konkrétně lískoořechového. Jako hlavní charakterizující parametry kvality vzorků byly vybrány a sledovány volné a vázané mastné kyseliny, aromaticky aktivní látky a senzorická kvalita.

V následujících kapitolách je popsáno složení, technologie výroby a vlastnosti sýrových analogů, a také klasických sýrů eidamského typu, které budou považovány za standard kvality vyrobených vzorků z hlediska chemického složení i senzorických vlastností.

Zvláštní kapitola je věnována lískoořechovému oleji, který byl použit pro výrobu modelových vzorků.

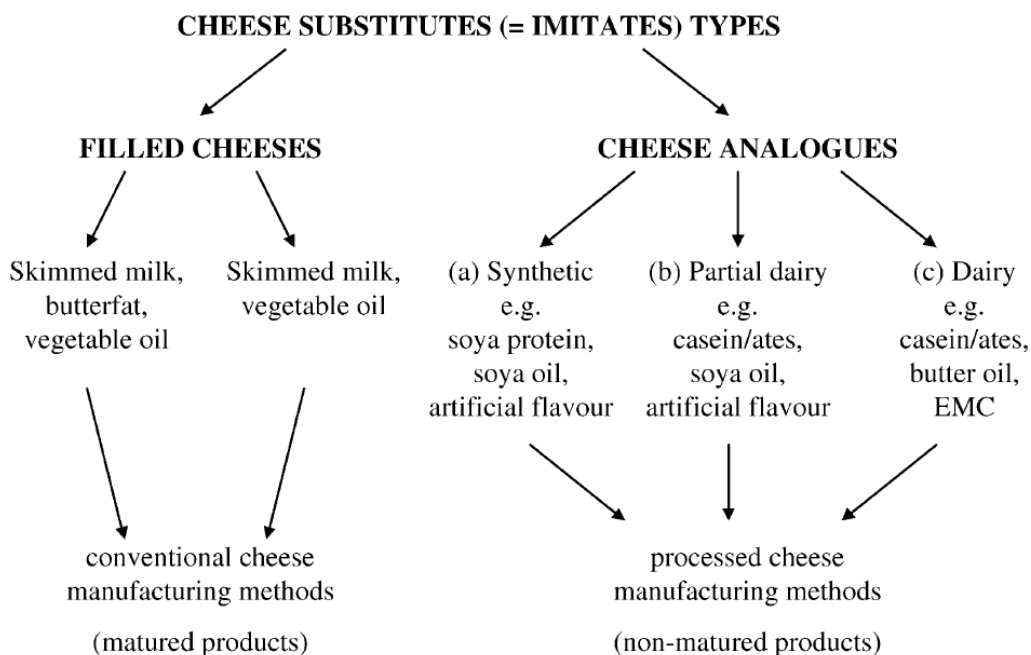
2.1 Sýrové analogy

Sýrové analogy byly vyvinuty jako levnější alternativa ke klasickým sýrům, zejména z důvodu rozmachu hotových jídel, a souběžně s tím i z důvodu rostoucí poptávky po sýru jako potravinářské surovině. Tato alternativa je svou charakteristikou, použitím a vzhledem stejná jako sýr [1,2].

Fakticky jde o úplné nebo částečné nahrazení mléčné komponenty jinou, nemléčnou složkou – mléčný tuk je nahrazen například rostlinným olejem a mléčný protein například proteinem sójovým. Zároveň je možné přidávat různé tavicí nebo emulgační soli [3].

2.1.1 Dělení sýrových analogů

Dle následujícího diagramu (Obrázek 1) lze sýrové náhražky (imitace) rozdělit do dvou kategorií. Prvním typem jsou tzv. *Filled cheeses*, což bychom mohli přeložit jako „plněné sýry“. Ty se vyrábí konvenčními metodami, podléhají klasickému zrání, a dochází u nich při výrobě pouze k obohacení mléka (respektive odtučněného mléka) o mléčný tuk a rostlinný olej. Druhou skupinou jsou tzv. *Cheese analogues*, tedy *sýrové analogy*. Ty jsou pak složením syntetické (tedy neobsahují žádnou mléčnou složku), částečně mléčné (obsahují mléčné bílkoviny) nebo mléčné (obsahují mléčné bílkoviny, mléčný tuk a příp. ochucující složky, např. enzymaticky modifikovaný sýr (zejména kvůli aroma)). Jejich výroba se řídí klasickou výrobou tavených sýrů a nedochází k jejich zrání [1].



Obrázek 1: Rozdělení sýrových analogů dle procesu výroby [1].

V obecném povědomí se v češtině nerozlišují pojmy sýrový analog a sýrová náhražka či sýrová alternativa. Dle dělení uvedeného výše by byly vzorky vyrobené a analyzované v této práci označeny jako *plněný sýr*, nicméně tento termín není v češtině obvyklý a vzorky budou nadále v práci označovány jako *sýrový analog*.

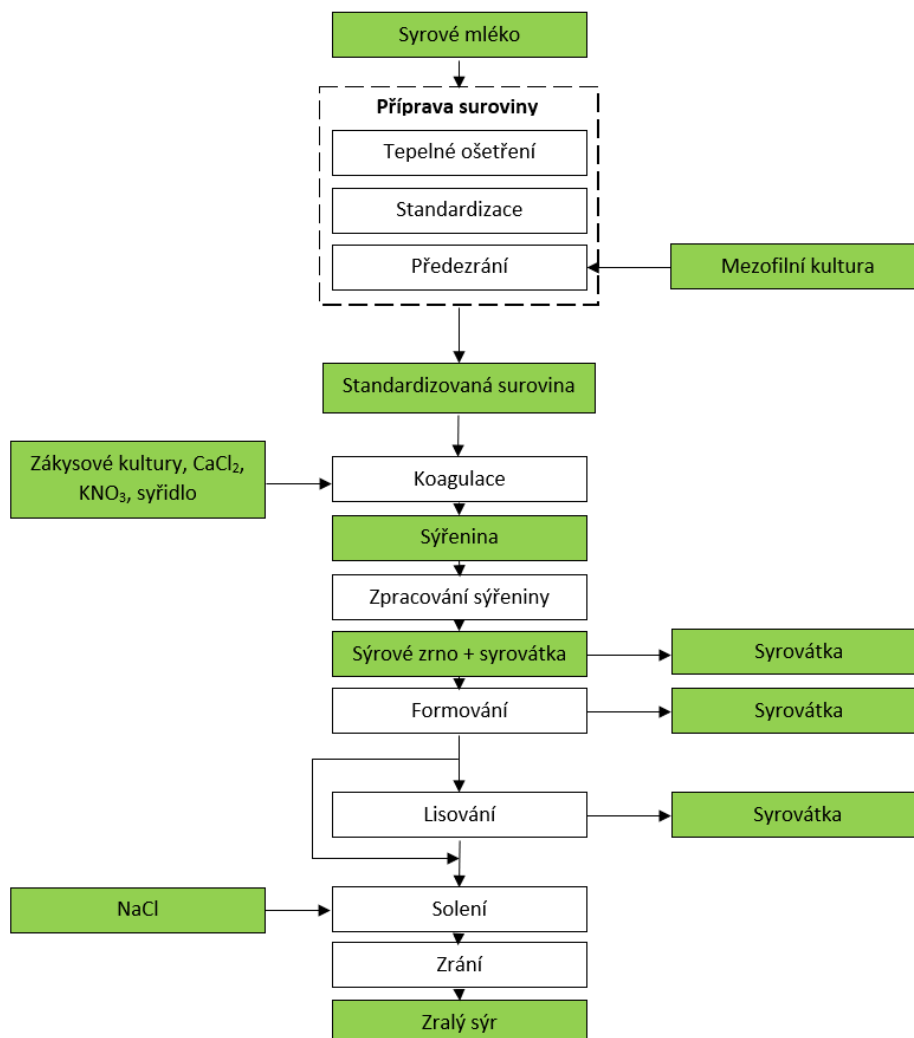
Problematickou sýrových analogů se zabývají i současní autoři, i když publikovaných prací zatím není mnoho. Je třeba zmínit souhrnné práce Bachmann [1] nebo Guinee [3], na které navazují Badem a kol. [4]. Tamime [5] vydal celou knihu o sýrových analogích, která popisuje vše, co se jich týká – od historie, přes legislativu, samotnou výrobu, až po rozbor jednotlivých komponent, které se používají [5]. Nahrazením mléčného tuku lískoořechovým olejem se, pokud vím, zabývali pouze Achachlouei a kol. [6]. Vyrobili sýry zrající ve slaném nálevu, u kterých bylo nahrazeno 50 a 100 % mléčného tuku lískoořechovým olejem (vstupní surovinou bylo odstředěné mléko) a klasický plnotučný sýr jako kontrolu. Takto je nechali zrát 80 dní a v intervalech 20 dnů měřili profil mastných kyselin, obsah vitamínu E, lipolytickou aktivitu, počet bakterií mléčného kvašení a senzorické vlastnosti. Ve vzorcích s lískoořechovým olejem se podle očekávání nacházelo větší množství nenasycených mastných kyselin a vyšší obsah vitamínu E. Lipolytická aktivita stoupala u všech vzorků v průběhu zrání, nicméně u kontrolního vzorku byla nejvyšší. Bakteriální kultury zaznamenaly u rodu *Lactococcus* nárůst a pak mírný pokles, zatímco u rodu *Lactobacillus* tomu bylo naopak. Z hlediska senzorických vlastností vzorek obsahující 100 % lískoořechového oleje byl hodnocen jako významně přijatelnější než ostatní vzorky [6].

2.2 Klasické sýry – technologie výroby

Na rozdíl od analogů, sýry jsou člověku známy poměrně dlouhou dobu, dnes se jedná o tradiční pokrm. Základní surovinou pro výrobu sýra je mléko, u nás zpravidla kravské, ale na trhu je možné narazit na sýry ovčí, kozí nebo buvolí. K výrobě kvalitního sýra je nutné použít kvalitní mléko – např. nedostatek kaseinu snižuje syřitelnost (schopnost enzymového

srážení), rezidua antibiotik potlačují startovací kultury a snižují tak kvasnost mléka, nebo přítomnost sporotvorných či termofilních mikroorganismů, která se projeví špatným zráním [7].

Vzhledem ke vzorkům analyzovaným v této práci bude v této kapitole zmíněna obecná výroba sýra se zaměřením na sýr s nízkodohřívanou sýřeninou tzv. eidamského (holandského typu).



Obrázek 2: Schéma obecné výroby sýra [7].

2.2.1 Předběžné technologické operace

Po příjmu mléka jsou případné hrubé mechanické nečistoty odstraněny filtrací, případně centrifugací. Pokud není mléko určené k okamžitému zpracování, je možné jej podrobit termizaci, která redukuje změny v mléce při následném skladování. Nejlepší je ale ihned mléko zpracovat, proto dalším krokem je pasterace. Při výrobě sýrů se nejčastěji uplatňuje tzv. šetrná pasterace, tj. zahřev mléka na 72 °C po dobu 30 sekund. Vyšší teploty jsou nevhodné, protože zhoršují proces sýření [7].

Dalším krokem je příp. baktofugace nebo mikrofiltrace, jimiž se redukuje spory *Clostridium tyrobutyricum*, které způsobuje pozdní duření sýrů během zrání. Zařazením tohoto kroku lze omezit nebo zcela vypustit přidání KNO₃ [7].

V průběhu tepelného ošetření se provádí standardizace mléka, protože obsah bílkovin a tuku v mléce není během roku stálý (na podzim se v mléce nachází vyšší množství obou komponent). Jelikož je sýr charakterizován určitým podílem tuku v sušině (dále jen t. v s.), musí se zohlednit příslušné složení mléka, které je třeba upravit k dosažení požadované hodnoty t. v s. [7].

Před přidáním startovací kultury a syřidla je možné přidat do mléka chlorid vápenatý, který zlepšuje syřitelnost a zvyšuje pevnost vzniklého gelu, nebo dusičnan draselný, který se přidává zejména kvůli potlačení výše zmíněné bakterie způsobující duření sýrů. Dusičnan draselný se přidává v malých koncentracích, aby nepotlačil činnost startovací kultury, navíc hrozí riziko vzniku barevných vad a nitrosaminů. Dále je možné přidat do mléka nebo dále do syřeniny různé ochucující složky (ořechy, koření, zeleninu), případně barviva [7]. V našem případě byl v této fázi výroby přidán olej, který byl zpracován do mléka.

2.2.2 Přídavek zákysových kultur

Tento krok je nezbytným předpokladem k úspěšné výrobě všech sýrů. Přidané kultury totiž plní zásadní funkce, bez kterých by sýr šel obtížně vyrobit. Zaprvé upravují kyselost mléka před syřením tím, že tvoří kyselinu mléčnou z laktózy. Následné snížení pH má příznivý vliv na koagulaci mléka, podporuje odkapávání syřeniny při dalším zpracování, a navíc má do jisté míry konzervační účinek, čímž brání rozvoji nežádoucích mikroorganismů. Během zrání má pak tato kultura značný vliv na proteolýzu a lipolýzu, čímž tvoří senzorický profil daného sýra, neboť dává vzniknout řadě aromatických sloučenin. Další funkcí startovací kultury je i vliv na konečnou texturu – proteolytické změny bílkovin a tvorba ok.

Pro téměř všechny druhy sýrů se jako základní startovací kultura volí mezofilní kultura (zpravidla *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* nebo rod *Leuconostoc* [8]), která může být podle typu sýra doplněna dalšími kulturami. U sýrů s nízkodohříváním syřeninou se používá výhradně mezofilní kultura (nebo směs mezofilních kultur), protože teplota dohřívání syřeniny se pohybuje v teplotním rozmezí, které je pro tyto kultury příznivé (tj. do 40 °C). Kultura je do mléka přidána při teplotě 30–33 °C 30–45 minut před syřením. Důležité je inokulum dobře rozmíchat a zároveň po celou dobu před syřením držet konstantní teplotu [7].

2.2.3 Koagulace mléka

V této fázi výroby se jedná o srážení mléčné bílkoviny kaseinu. Koagulace lze dosáhnout dvěma způsoby – snížením pH na hodnotu blízkou izoelektrickému bodu (tzv. kyselé srážení) a enzymaticky (tzv. sladké srážení).

Koagulace syřidlem je založena na enzymatickém štěpení peptidové vazby frakce κ -kaseinu mezi 105. a 106. aminokyselinou (Phe – Met). Tím vzniká hydrofobní para- κ -kasein a hydrofilní glykomakropeptid. Dochází ke spojování kaseinových micel, neboť κ -kasein rozložením ztrácí ochrannou funkci pro ostatní kaseinové frakce, které jsou citlivé na srážení vápenatými ionty. Celý proces koagulace má tři fáze. Primární (enzymová) fáze již byla zmíněna – působení syřidla na κ -kasein. V sekundární (koagulační) fázi dochází k samotné tvorbě gelu, která je nezbytně podmíněna teplotou vyšší než 6 °C a přítomností vápenatých iontů. Terciární fáze se týká proteolytického působení syřidla v průběhu zrání sýra [7].

Klasické syřidlo se získává extrakcí telecích žaludků (enzym chymosin). Jelikož jsou zdroje této suroviny poměrně omezené, používají se i další enzymové preparáty s obdobným působením (živočišné, mikrobiální i rostlinné přípravky). Jako živočišné syřidlo se používá

pepsinové syřidlo, často používané ve směsi s chymosinem. Mikrobiální syřidla jsou preparáty izolované z plísní *Cryphonectria parasitica* a *Rhizomucor miehei* (používají se hlavně při výrobě sýrů přijatelných pro vegetariány). Z rostlinných syřidel se spekuluje o použití enzymů obsažených v ananasu. V současné době se nedostatek syřidla řeší rekombinantním chymosinem, který se získává vnesením genu pro chymosin do produkčního mikroorganismu (*A. niger* var. *Awamori*, *E. coli*, *Kluyveromyces lactis*). Syřidlo se přidává ve formě zředěného roztoku v dávce do 30 ml na 100 kg mléka. Důležité je důkladné rozmíchání syřidla během 2–3 minut a uvedení mléka do klidu během dalších 8–10 minut. Tím bude zajištěn hladký průběh tvorby gelu s minimálními ztrátami do syrovátky. Celková doba srážení se pohybuje mezi 25 a 120 minutami, nejčastěji však 30 minut. Na konci tohoto procesu vzniká gel – syřenina [7].

2.2.4 Zpracování syřeniny

Syřenina se dále zpracovává za účelem získání sýrových zrn a oddělení potřebného množství syrovátky ze struktury gelu. Celý proces zpracování je zahájen krájením pomocí sýrařských harf v okamžiku, kdy je dosažena požadovaná tuhost gelu. Při této operaci, která trvá přibližně 20 minut, vzniká sýrové zrno veliké 3–15 mm [7].

Dalším krokem je míchání zrna v uvolněné syrovátce. Zpočátku musí být míchání šetrné, aby nedocházelo k rozbití zprvu křehkého zrna. To by vedlo ke ztrátám do syrovátky v podobě tzv. sýrového prachu. Současně ale sýrové zrno nesmí sedimentovat a nesmí se slepovat [7].

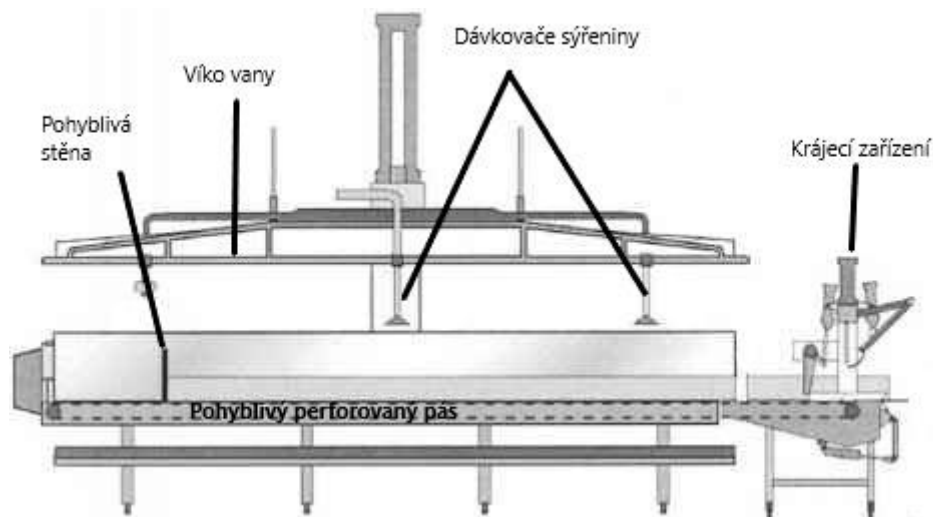
V případě sýrů s nízkodohřívanou syřeninou se zařazuje krok tzv. dohřívání a dosoušení, kdy se sýrové zrno dohřeje na teplotu dosoušení, což je v případě tohoto typu sýra (s 30% obsahem t. v s.) 36–38 °C [7].

Všechny operace při zpracování syřeniny podporují její synerezi, dochází tedy ke smršťování sýrových zrn a k uvolňování syrovátky. Zvýšená teplota podporuje uvolnění některých vazeb ve svazcích kaseinových micel, které tvoří síť gelu. Navíc se formují i nové četnější vazby s těsnějším uspořádáním výsledné struktury [7].

2.2.5 Formování

Vlastní formování začíná při oddělení syrovátky od sýrového zrna, přičemž způsob oddělení syrovátky i další formování jsou závislé na typu sýra [7].

V případě sýrů s tvorbou ok je důležité, aby během formování zrno nepřišlo do styku se vzduchem, respektive, aby spojování zrn bylo dokonalé a bez vzduchových bublin. V průmyslovém měřítku se toto řeší pomocí předlisovací vany (Obrázek 3), která se z části zaplní syrovátkou a teprve potom se pod hladinu vypustí zbývající syrovátka se zrnem. Pomocí víka vany se předlisuje plát syřeniny, syrovátka odtéká dnem vany (tvořené umělou tkaninou) a ostatními stěnami (jemně perforovaný nerezový plech). Takto připravený plát je na konci zařízení nakrájen na požadovanou velikost a vzniklé bloky jsou vkládány do forem (tvořitek) (perforovaný plast nebo nerez), ve kterých jsou sýry lisovány. Případné dutinky uvnitř jsou vyplněny syrovátkou, kde kyselé kultury během zrání produkují CO₂. Ten se rozpouští a při přesycení tvoří malé dírký. Difuzí pak některé zaniknou a některé se zvětší. Tím vznikají charakteristická drobná oka tohoto typu sýra. Část CO₂ též uniká ze sýra [7].



Obrázek 3: Předlisovací vana, upraveno dle [9].

Tvořítka jsou perforovaná, protože sýry nadále uvolňují syrovátku. Polotvrdé a tvrdé sýry se lisují postupně narůstajícím tlakem. Rychlé zvýšení tlaku by mělo za následek uzavření povrchu sýra a zabránění odtoku syrovátky. Během lisování probíhá další prokysávání sýra. Lisováním ztrácí sýr poslední zbytky syrovátky, dostává finální tvar a texturu, a u dlouhozrajících sýrů se utváří základ kůry na povrchu [7].

2.2.6 Solení

Tento technologický krok ovlivňuje chuť výsledného sýra, ale i aktivitu kultur a enzymů při jeho zrání. Zvýšením osmotického tlaku v prostoru mezi zrny se zvyšuje množství uvolněné syrovátky. Dále se solením zpevní povrch výsledného produktu. Výměna vápenatých iontů za sodné ionty ve struktuře para- κ -kaseinu zjemňuje konzistenci sýra [7].

Obsah soli se většinou pohybuje mezi 0,5–2 %. Rozlišujeme tři postupy solení, které lze podle potřeby kombinovat.

Prvním je solení do zrna. Suchá sůl se přímo přidává a vmíchává do rozkrájené nebo pomleté sýřeniny na konci zpracování před formováním. Sůl se rozpouští ve vlhké sýřenině a difunduje jen na krátkou vzdálenost do částic pomleté sýřeniny, způsobuje uvolňování syrovátky, tím rozpouštění dalších krystalů NaCl a následnému vzniku přesyceného roztoku kolem každého zrna. Výsledkem je rovnoměrné prosolení celého sýra v relativně krátké době (10–20 minut) za vzniku poměrně slané syrovátky [7].

Další možností je solit sýr na sucho. Jak již název napovídá, jde o roztírání suché soli nebo kaše na povrch sýra po formování. U větších sýrů je nutné solení opakovat [7].

Posledním způsobem je solení v solné lázni. Jedná se o nejčastější způsob solení sýrů používaný u nás, při výrobě nízkodohříváných sýrů se používá výhradně. Parametry solné lázně jsou následující: koncentrace soli 18–22 %, pH 5,2 (tvrdé sýry) nebo 4,8–5,0 (měkké sýry), žádoucí je i obsah vápníku (0,1–0,2 %), teplota 10–14 °C. Doba solení je závislá na velikosti a tvaru sýra a pochopitelně i na požadovaném obsahu soli ve finálním výrobku. Sýry by měly být dobře prokysané, tj. u tvrdých a polotvrdých sýrů na pH okolo 5,4 – při vyšším pH by sýr byl příliš měkký a méně slaný, při nižším pH by byl sýr naopak tuhý a křehký [7].

2.2.7 Zrání

Všechny sýry, s výjimkou čerstvých (nezrajících), podléhají procesu zrání. Jedná se o souhrn komplexních změn, které jsou způsobeny syřidlovými enzymy (příp. nativními enzymy u sýrů z čerstvého mléka), enzymovou činností mikroorganismů zákysových, příp. nezákysových kultur včetně enzymů působících po lýze jejich buněk, kdy sýr získává typický vzhled, konzistenci, chuť, vůni a složení. Hlavní reakce, které zodpovídají za změnu textury a vznik aromatických složek, jsou glykolýza, proteolýza a lipolýza [7].

Pomocí technologických operací se cílí na aktivity jednotlivých kultur, čímž se ovlivňuje jejich rozsah a rychlost fermentace laktózy. Fermentace laktózy probíhá v rámci tzv. předběžného zrání sýrů – při zpracování mléka, syření, formování a solení. U tvrdých sýrů je nutné do 24 h dosáhnout požadované hranice kyselosti (pH 5,2). Kyselina mléčná je neutralizována pufracími složkami mléka a je zachycena ve formě mléčnanu v zrně. Jako mléčnan pak může sloužit některým kulturám jako substrát, např. bakterie propionového kvašení u sýrů ementálského typu – zde kromě kyseliny propionové vzniká ještě kyselina octová a CO_2 , který odpovídá za tvorbu ok. Mléčnan může být substrátem i pro nežádoucí bakterie, např. při máselném kvašení vzniká kromě CO_2 vodík a těkavé mastné kyseliny. Vodík poté způsobuje ruptury sýra při tzv. pozdním duření. Drobná oka v sýrech s nízkodohřívanou syřeninou mají původ jiný – jedná se o vznik CO_2 přeměnou citrátu [7].

Rozklad bílkovin je charakteristický pro sýry polotvrdé a tvrdé. Syřidlo nejprve naštěpí parakasein, což následně urychluje působení proteolytických enzymů bakteriálních kultur, které dále tyto polypeptidy štěpí na nízkomolekulární polypeptidy, dipeptidy a nakonec aminokyseliny. Rozkladem bílkovin vznikají rovněž těkavé mastné kyseliny, které se výrazně podílejí na senzorickém profilu sýra [7].

Změny tuku se výrazně liší v závislosti na typu sýra, nejvýraznější jsou u plísňových sýrů, zejména na základě reakcí uvolněných mastných kyselin [7]. U sýrů eidamských je lipolýza považována spíše za nežádoucí a probíhá pouze v mírném rozsahu. Nicméně nízké koncentrace mastných kyselin, jsou-li ve správné rovnováze s produkty proteolýzy nebo jiných reakcí, přispívají k výsledné chuti eidamských sýrů [8].

Při zrání dochází také ke změně konzistence sýra. Na výslednou konzistenci má významný vliv obsah kyseliny mléčné. Při jejím optimálním množství tvoří parakasein laktát, který je rozpustný v 5% roztoku NaCl (pH 5,2). Sodné ionty vytěsňují vápenaté ionty a konzistence vysoleného sýra postupně zvláčňuje. Při přebytku kyseliny mléčné dochází k vytěsnění vápníku kyselinou, k žádné reakci s NaCl nedojde (vznikne pouze nerozpustný bilaktát) a konzistence je tuhá [7].

Zrání sýrů může probíhat aerobně nebo anaerobně. Aerobním zráním je myšleno zrání od povrchu dovnitř (působením povrchové mikroflóry), typické pro plísňové sýry. Anaerobní zrání je zrání v celé hmotě sýra, které u tvrdých a polotvrdých sýrů převládá. Oba typy zrání se u řady sýrů doplňují [7].

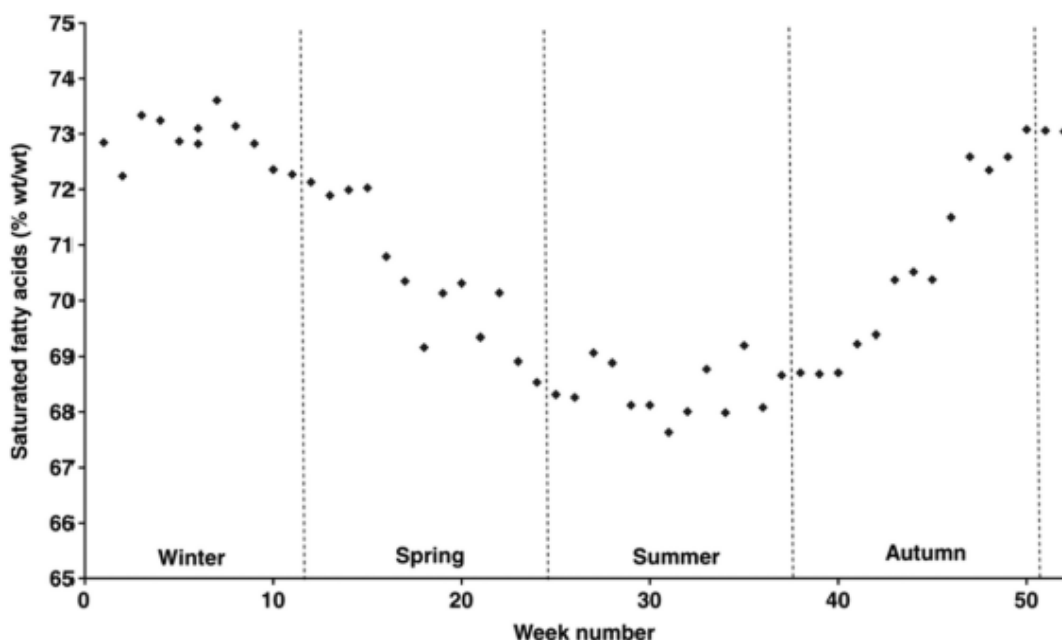
Sýry zrající anaerobní cestou jsou ihned po solení baleny do zracích fólií, ošetřují se ochranným plastovým nátěrem nebo jsou při zrání potírány solným roztokem nebo lněným olejem. Zrací fólie a nátěry představují bariéru pro kyslík a vodu, jsou ale propustné pro oxid uhličitý. Zrací fólie pak představují téměř stoprocentní bariéru proti nárůstu jakékoliv povrchové mikroflóry [7].

Podmínky zrání závisí na typu sýra, určují rychlost zrání, ztráty na hmotnosti, tvorbu kůry. Důležité a rozhodující parametry zrání jsou teplota a doba zrání, v případě sýrů zrajících mimo zrací fólie i relativní vlhkost [7].

2.3 Mléčný tuk

Vzhledem k zaměření této práce je v této kapitole blíže popsán mléčný tuk a jeho složení MK.

Mléčný tuk je jedna z hlavních složek mléka. Jeho obsah se může pohybovat v rozmezí 3–6 %, nejčastěji 3,5–4,7 %. Převážně (cca z 98 %) se lipidy v mléce vyskytují ve formě triacylglycerolů (TAG). Obsah a složení mléčného tuku závisí na plemenu dojnic, a především na složení jejich stravy. Bohatý obsah C18 nenasycených mastných kyselin (PUFA) lze pozorovat u stravy složené z čerstvé trávy nebo olejových suplementů. Tato strava je typická pro jarní a letní měsíce. Na podzim a v zimě, kdy čerstvá zelená tráva na pastvinách není k dispozici, je strava dojnic složená především ze siláže nebo z krmných koncentrátů. To má za následek nárůst nasycených mastných kyselin (SFA) v mléčném tuku (Obrázek 4) [10].



Obrázek 4: Obsah SFA v mléčném tuku v holandském kravím mléce v průběhu roku [10].

Van Valenberg a kol. [11] se ve své práci zabývali PUFA a jejich obsahem v průběhu roku (Tabulka 1). K signifikantním rozdílům došlo pouze v koncentraci kyseliny linolové a kyseliny α -linolenové, kdy byl obsah obou mastných kyselin vyšší na jaře a v létě. Ostatní PUFA měly koncentraci stálou [11].

Tabulka 1: Zastoupení nenasycených mastných kyselin v holandském kravím mléce v průběhu roku 2011, průměrný obsah (g/100 g tuku \pm SD), upraveno dle [11].

	Roční období				Průměr roku 2011
	Zima	Jaro	Léto	Podzim	
Počet vzorků	n = 13	n = 11	n = 13	n = 13	n = 50
Obsah tuku (%)	4,502 \pm 0,060	4,364 \pm 0,116	4,209 \pm 0,020	4,359 \pm 0,095	4,358 \pm 0,131
n-3 polynenasycené mastné kyseliny					
α -linolenová	0,479 \pm 0,012 ^a	0,513 \pm 0,035 ^b	0,511 \pm 0,023 ^b	0,481 \pm 0,017 ^a	0,495 \pm 0,027
stearidonová	ND	ND	ND	ND	ND
eikosatetraenová	0,040 \pm 0,005	0,041 \pm 0,003	0,041 \pm 0,004	0,042 \pm 0,006	0,041 \pm 0,004
eikosapentaenová	0,065 \pm 0,004	0,068 \pm 0,008	0,069 \pm 0,003	0,069 \pm 0,004	0,067 \pm 0,005
dokosapentaenová	0,088 \pm 0,013	0,085 \pm 0,005	0,084 \pm 0,004	0,086 \pm 0,005	0,086 \pm 0,008
tetrakosapentaenová	ND ¹	ND	ND	ND	ND
tetrakosaheptaenová	ND	ND	ND	ND	ND
dokosaheptaenová	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
n-6 polynenasycené mastné kyseliny					
linolová	1,391 \pm 0,023 ^a	1,453 \pm 0,055 ^b	1,465 \pm 0,037 ^b	1,406 \pm 0,103 ^a	1,428 \pm 0,068
γ -linolenová	0,066 \pm 0,010	0,073 \pm 0,005	0,071 \pm 0,006	0,070 \pm 0,006	0,070 \pm 0,007
dihomo- γ -linolenová	0,068 \pm 0,003	0,065 \pm 0,003	0,065 \pm 0,005	0,065 \pm 0,006	0,066 \pm 0,004
arachidonová	0,088 \pm 0,003	0,091 \pm 0,003	0,088 \pm 0,005	0,088 \pm 0,004	0,089 \pm 0,004
adrenová	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
tetrakosatetraenová	ND	ND	ND	ND	ND
tetrakosapentaenová	ND	ND	ND	ND	ND
dokosapentaenová	ND	ND	ND	ND	ND

^{a,b} Průměrné hodnoty signifikantně odlišné ($P < 0,01$) dle Duncanova testu

¹ ND – nebylo detekováno, SD – směrodatná odchylka

Villeneuve a kol. [12] ve své práci sledovali změny složení mléka holštýnského skotu v závislosti na použitém krmivu. Skot byl krmen senem, pásal se na pastvinách anebo byl krmen siláží (Tabulka 2). Hlavní nasycenou mastnou kyselinou byla kyselina palmitová (C16:0), následovaná kyselinou myristovou (C14:0). I zde je vidět proměnlivý obsah jednotlivých MK, který koresponduje s výše zmíněnými výsledky studie Van Valenberg a kol. [11]. Vyšší hodnoty jsou patrné u siláže a sena, tedy stravy typické pro podzimní a zimní období, a nižší hodnoty SFA jsou v případě pastviny, tedy v jarním a letním období [12].

Tabulka 2: Zastoupení SFA v mléce na základě složení stravy dojníc, upraveno dle [12].

SFA (%)	Seno	Pastvina	Siláž
C4:0	5,01	5,04	4,94
C6:0	2,59	2,47	2,46
C8:0	1,31	1,26	1,27
C10:0	2,91	2,65	2,76
C11:0	0,04	0,04	0,05
C12:0	3,39	2,9	3,20
C13:0	0,08	0,07	0,09
C14:0	12,20	10,66	11,71
C15:0	1,11	1,05	1,16
C16:0	37,82	29,34	36,35
C17:0	0,54	0,56	0,49
C18:0	7,14	8,98	7,23
C19:0	0,04	0,04	0,03
C20:0	0,14	0,15	0,14
C22:0	0,66	0,69	0,60
C24:0	0,04	0,05	0,04

Tentýž článek uvádí navíc i řadu těkavých látek, které byly v mléce obsaženy. Jedná se o pestrou paletu nejrůznějších sloučenin – estery (methylbutanoát, methylhexanoát), volné mastné kyseliny (C2–C16:0), aldehydy (hexanal, nonanal, benzaldehyd), ketony (aceton, butan-2-on), vyšší alkoholy (C5–C8), sirné sloučeniny (dimethylsulfon, dimethylsulfid), laktony (γ -, δ -), terpeny (D-limonen), fenolické látky (fenol, toluen) [12].

2.4 Aromaticky aktivní látky v eidamských sýrech a sýrových analogích

Jak je patrné z následujících dvou kapitol, sledování aromaticky aktivních látek a mastných kyselin v eidamských sýrech se věnuje řada autorů; sýrovým analogům je však z tohoto hlediska zatím věnována minimální odborná pozornost.

Jak již bylo zmíněno v podkapitole 2.2.7, k hlavní tvorbě aromatických látek v sýrech dochází během zrání. Jedná se především o produkty lipolýzy a proteolýzy. Na celkovém flavouru se podílí směs VMK, esterů, laktonů a ketonů, sirných sloučenin a aromátů, které jsou senzorycky znatelné už v nízkých koncentracích [13,14].

Za typické sýrové aroma jsou zodpovědné VMK, zejména ty s krátkým řetězcem. Vznikají činností lipáz nebo esteráz. Tyto enzymy jsou přirozeně přítomné v mléce (lipoproteinová lipáza), produkují je psychrotrofní bakterie v čerstvém mléce, mohou být do mléka zaneseny jako kontaminanty během procesu výroby sýra, ale především je produkují použité kultury během zrání. Větší lipolytická aktivita je typická hlavně pro plísňové sýry. Při použití pouze bakteriální kultury (jako je tomu v případě eidamských sýrů), není lipolýza tak markantní, tedy vznik VMK není tak intenzivní. V tomto případě VMK tvoří prekursor pro vznik esterů, laktonů, aldehydů a ketonů [13].

Alewijn a kol. [13] se zabývali vývojem aromatických látek během zrání sýra typu gouda a zkoumali, jak se změní jejich koncentrace v čerstvě vyrobeném vzorku během 96 týdnů zrání. Zjistili, že koncentrace VMK v průběhu zrání znatelně vzrostla – z původních 200–400 mg·kg⁻¹ sušiny na 700–1200 mg·kg⁻¹, tedy na koncentraci, jak sami uvedli, podobnou

ostatním sýrům, které zrají jen s pomocí bakteriální kultury. Domnívali se také, že významná část VMK pocházela z mléka samotného, respektive VMK z mléka daly vzniknout novým VMK v sýru. Další domněnkou o původu VMK bylo, že k jejich formování mohlo dojít už při zpracování syřeniny, nicméně zde uvádí pouze minimální množství. Stejně tak vzrostl obsah laktonů (δ -laktony zvýšily svou koncentraci už po dvaceti týdnech zrání, γ -laktony až po delší zrací době, oba z původních $0,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny na přibližně $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Ketony, resp. methylketony, jsou charakteristické hlavně pro plísňové sýry, proto byla jejich koncentrace velmi malá, ani během zrání nedošlo k velkému nárůstu (z $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny na $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Co se esterů týče, největší zastoupení měly ethylestery MK s dlouhým řetězcem, pravděpodobně proto, že ethanol je hlavní alkohol přítomný v sýru. Největší množství esterů a VMK s krátkým řetězcem se nacházelo ve vzorku vyrobeném z čerstvého nepasterovaného mléka [13].

Zároveň poukázali na zvláštní jev, kdy obsah VMK s krátkým řetězcem byl znatelně nižší, než v mléce i v mléčném tuku. Tuto ztrátu přisuzují vyloučení polárnějších VMK s krátkým řetězcem společně se syrovátkou [13].

V navazující práci se Alewijn a kol. [15] zabývali pouze původem a vznikem laktonů, protože tyto hrají významnou roli v celkovém flavouru eidamských sýrů. Zmiňují známou cestu vzniku laktonů, kdy zahrátím TAG, které mají esterově vázané mastné hydroxykyseliny, dojde k hydrolýze esterové vazby a mastné hydroxykyseliny mohou spontánně cyklizovat na laktony. Tento proces ale probíhá při vysoké teplotě (180°C), přičemž o formování laktonů při nižší teplotě během zrání (zde 13°C) je informací málo. Jednou z možností je tvorba laktonů enzymatickou činností bakterií mléčného kvašení. Během in vitro testů však bakterie nevykazovaly signifikantní tvorbu laktonů, takže byla tato možnost zavrhnuta. Druhou z možností je vznik laktonů chemickou cestou, tedy cyklizací mastných hydroxykyselin, které se vyskytují pouze vázané v podobě TAG, nikoliv ve volné formě. Předpokladem k tvorbě laktonů je tedy nejprve hydrolýza esterové vazby a následná cyklizace oddělené mastné hydroxykyseliny. Výzkum ale ukázal, že se s největší pravděpodobností jedná pouze o jednokrokovou intramolekulární transesterifikaci, při které dojde k odtržení již hotového laktonu z TAG. Zjistili také, že aktivita vody hraje velmi důležitou roli při tvorbě laktonů, pravděpodobně působí jako katalyzátor. Tyto poznatky daly vzniknout modelu, kterým je možné předpovědět koncentraci laktonů v sýru, především typu gouda, nicméně autoři nevylučují jeho aplikaci i na ostatní druhy. Předpovědní model lze použít k určení vývoje laktonů v sýru typu gouda během zrání při 13°C po dobu až 40 týdnů. Zajímavé je, že ho lze použít pouze k predikci laktonů s dlouhým řetězcem, protože bylo zjištěno, že mechanismus vzniku laktonů s krátkým řetězcem je pravděpodobně odlišný a vyžaduje více zkoumání [15].

Van Leuven a kol. [14] navazovali na práce Alewijn a kol. [13,15], nicméně se zaměřili také na produkty proteolýzy a na původ ostatních aromatických látek metodou simultánní destilace-extrakce spojenou s analýzou na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí (SDE-GC-MS). Porovnávali zastoupení látek v sýru typu gouda z čerstvého a pasterovaného mléka. Z aminokyselin s větveným řetězcem vznikají větvené aldehydy (2- a 3-methylbutanal), větvené kyseliny (2-methylpropanová, 2- a 3-methylbutanová) a větvené alkoholy (3-methylbutanol). Z aromatických aminokyselin vznikají benzaldehyd, fenylacetaldehyd, indol apod. Sirné sloučeniny, jako dimethyldisulfid, methional, dimethyltrisulfid, vznikají z methioninu. Z metabolismu laktózy, kyseliny mléčné a citronové vzniká biacetyl (butan-2,3-dion) a jeho redukované formy acetoin (3-hydroxy-butan-2-on) a butan-2,3-diol [14].

Dále pak zmiňují senzorické charakteristiky jednotlivých látek. Větvené aldehydy vytváří sladové až oříškové aroma, korespondující alkoholy jsou zodpovědné za alkoholové a ovocné tóny. Kyseliny vytváří spíše nepříjemné pachy – hnilobné, zkaženého ovoce, žluklé, až fekální. Sloučeniny s aromatickým jádrem poskytují aroma hořkých mandlí (benzaldehyd), květinové až medové aroma (fenylacetaldehyd), a shnilé až fekální pachy (indol). Sirné sloučeniny poté dávají aroma zelí, česneku nebo cibule. Biacetyl poskytuje typické máselné tóny. Zároveň v práci hovoří i o dalších látkách, například laktony mohou dávat máselné, ovocné a kokosové aroma, nasycené aldehydy (hexanal apod.) jsou cítit po travnatém pachu, tzv. zelená vůně, ethylestery mají typickou sladkou a ovocnou vůni. U výše zmíněných látek se v sýru z pasterovaného mléka vyskytovalo vyšší množství produktů proteolýzy a ethylesterů. Korelační analýzou zjistili, že sladké a ovocné tóny byly typické spíše pro sýr z čerstvého mléka, zatímco sirné látky byly z hlediska intenzity flavouru typické hlavně pro sýr z pasterovaného mléka [14].

Obdobný aromatický profil popsali ve své práci i Jo a kol. [16]. Identifikovali na 90 aromaticky aktivních látek, přičemž jako klíčové byly označeny látky biacetyl, 2- a 3-methylbutanal, 2-methylpropanal, methional, ethylbutyrát, kyselina octová, kyselina butanová, δ -dekalakton a 2-isobutyl-3-methoxypyrazin. Senzoricky potom porovnávali nevyzrálé a vyzrálé sýry. Nevyzrálé byly cítit po mléku, syrovátce, byly kyselejšího aroma a cítit po biacetylu. Na chuti pak byly jemné a dávaly pocit plnosti v ústech. U vyzrálých sýrů pak převažovaly ovocné tóny, dále karamel a sladový až ořechový flavour. V ústech byl vyzrálý sýr charakteristický větší pevností a prasklinami [16].

Cavanagh a kol. [17] zkoumali použití nemlékárenských bakteriálních kultur ke zrání sýru typu gouda ve srovnání s klasickými kmeny. Jednalo se o kmen *Lactococcus*, jehož poddruhy byly izolovány ze vzorku trávy, z kukuřice nebo třeba z hovězího bachoru. Některé divoké kmeny byly srovnatelné s klasickými, zejména z hlediska sekundární proteolýzy (uvolnění intracelulárních proteolytických enzymů po lýze buňky), ostatní ale poskytovaly nepříjemné pachy a off-flavoury a často způsobovaly výraznou hořkost sýra. Přesto byl závěr práce takový, že tyto divoké kultury mají potenciál hlavně jako doplňkové ke kulturám klasickým [17].

2.5 Mastné kyseliny v eidamských sýrech a sýrových analogích

Mastné kyseliny v sýru a jejich zastoupení se odvíjí hlavně podle mléka, které bylo použito k jeho výrobě. Dá se očekávat, že mastné kyseliny ve formě TAG budou mít velice podobné zastoupení, jako měly v mléce (blíže uvedeno v podkapitole 2.3).

V průběhu zrání ale dochází ke vzniku volných mastných kyselin, což částečně koresponduje s předešlou podkapitolou. Například Iyer a kol. [18] identifikovali v sýru typu gouda 13 VMK, 12 se sudým počtem uhlíků (C2:0–C18:3) a kyselinu mravenčí. Největší zastoupení měly kyseliny octová, palmitová a olejová [18]. Jen pro zajímavost, Hickey a kol. [19] zkoumali totéž v sýru typu čedar. Zároveň porovnávali výrobek z čerstvého a pasterovaného mléka. Identifikovali 9 VMK se sudým počtem uhlíků (C4:0–C18:1). Obsah VMK v čerstvém mléce byl o dva řády vyšší než v mléce pasterovaném. Největší zastoupení měla kyselina palmitová, následovaná kyselinou stearovou a olejovou [19]. Lopez a kol. [20] v sýru typu ementál identifikovali 12 VMK (C4:0–C18:3), přičemž hlavní zastoupení měly opět kyseliny palmitová, stearová, olejová a myristová [20].

Co se týče sýrových analogů, již výše zmíněná práce Achachlouei a kol. [6] se zabývala sledováním profilu mastných kyselin sýrových analogů s lískoořechovým olejem.

2.6 Lískové ořechy

Líska obecná, lat. *Corylus avellana*, je známý keř, který se pro své plody pěstuje v Evropě (Itálie, Francie, Španělsko, Portugalsko), dále na pobřeží Černého moře, v některých asijských zemích, případně v USA. Po celém světě můžeme najít více než 100 kultivarů. Největším producentem je Turecko s přibližně 80% účastí na celosvětové produkci, která za rok dosahuje cca 850 000 tun [21].

Využití lískových oříšků nalezneme hlavně v potravinářském průmyslu, nasladko, naslano, celá řada variací – celá jádra, půlky jader, drcená jádra v čokoládách, posypky na zmrzlínách, dezertech, náplně čokoládových bonbonů, lískoořechové pomazánky, tyčinky, oříškové směsi, aj.

Další využití má pak z nich získaný olej ve studené kuchyni k přípravě salátů, dále jím lze ozvláštnit pečení pečiva či masa. Uplatnění nalézá také v kosmetice, hlavně díky jeho zvláčňujícím a hydratačním účinkům (přípravky jsou určeny pro suché vlasy či pleť) [21,22].

2.6.1 Extrakce a výroba lískoořechového oleje

K získání oleje je potřeba jej z ořechového jádra vhodným způsobem izolovat. To se provádí pomocí různých metod, mezi které patří lisování šroubovým lisem, lisování za studena, extrakce organickým rozpouštědlem, příp. modernější metody superkritická fluidní extrakce (SFE – Supercritical Fluid Extraction), extrakce mikrovlnným ohřevem (MAE – Microwave-assisted Extraction) a extrakce pomocí ultrazvuku (UAE – Ultrasound-Assisted Extraction). Výtěžek oleje a s ním i prospěšných či nežádoucích látek pak souvisí s použitým extrakčním postupem [21].

2.6.1.1 Lisování

Tato metoda je nejčastěji používána na průmyslové úrovni. Lískový ořech je nejprve očištěn, zbaven skořápky a slupky, poté je nařezán na tenké plátky, které jsou následně upraženy a putují dále do lisu.

Používají se zejména šnekové lisy. Výhodou této metody jsou její nízké náklady, ovšem výtěžnost a kvalita získaného oleje nejsou příliš vysoké. Navíc není možná přímá konzumace získaného oleje, neboť nemá žádoucí barvu ani vůni, a dále obsahuje nežádoucí kontaminanty. Proto se mu říká surový olej, který obsahuje nečistoty v podobě volných mastných kyselin, vosků, stopového množství kovů, uhlovodíků, pigmentů, glycerolu a jiných nežádoucích látek. Obsah a množství těchto kontaminantů je ovlivněno podmínkami růstu, stavem půdy, klimatem a skladováním. Vedle nežádoucích látek ale obsahuje surový olej značné množství bioaktivních látek – sterolů, tokoferolů a v tucích rozpustných vitaminů, které přispívají k údržnosti a stabilitě oleje, a mají příznivé účinky na lidský organismus. Nečistoty jsou z oleje odstraněny procesem zvaným rafinace. Rafinací se odstraní veškeré nežádoucí látky, přičemž zůstanou zachovány přirozené vlastnosti a složení oleje. Nevýhodou rafinace je však snížení množství bioaktivních látek a současný úbytek typického oříškového aroma [21,23].

2.6.1.2 Lisování za studena

Touto metodou dochází u oleje k zachování jeho typické oříškové chuti a aroma. Je sice svým výtěžkem méně efektivní než lisování tepelně opracovaných jader, nicméně výsledný olej poskytuje vyšší nutriční hodnotu a současně si zachovává více prospěšných bioaktivních látek, které jinak vlivem tepla mizí [23]. Lískové jádro (zbavené skořápky a slupky) je buď lisováno

přímo, nebo se před lisování zařadí některé operace, které napomáhají zvýšit výtěžnost, tj. podrcení jader a použití enzymů k lepšímu rozrušení buněčných stěn, nebo předsušení této drtě vedoucí ke snížení obsahu vody. Takto získaný olej je pak určen k přímé spotřebě a nemusí projít rafinací, pokud obsahuje hrubší nečistoty, je možné je odstranit filtrací [24].

2.6.1.1 Extrakce nepochlíváním rozpouštědlem

Nejpoužívanějším nepochlíváním extrakčním činidlem je hexan. Pro zvýšení výtěžnosti je opět dobré zařadit proces podrcení jader, čímž dojde ke zvýšení reakčního povrchu. Základním principem je extrahovat olej z jader do rozpouštědla, které je následně odpařeno. Tím by měl zůstat pouze surový olej. Surový proto, že obsahuje stopová množství rozpouštědla a je nutné ho znovu přechistit, nejčastěji destilací vodní parou, což opět vede ke ztrátě biologicky aktivních látek. Vzhledem k toxicitě hexanu není tato metoda příliš přátelská k životnímu prostředí. Technologicky je tato metoda nenáročná, poskytuje nejvyšší výtěžky oleje, ale o nízké kvalitě [23].

2.6.1.2 Superkritická fluidní extrakce

SFE se často používá ve spojení s ostatními extrakčními metodami. Jelikož dosahuje sama o sobě podobných výtěžků, jako je tomu u klasického lisování šroubovým lisem nebo lisování za studena, lze například kombinací těchto dvou extrakčních metod dosáhnout ještě většího výtěžku tím, že se vzniklé výlisky podrobí SFE. Jako superkritická tekutina se používá CO₂, jelikož je netoxický, nekorozivní a nehořlavý, obecně je tato metoda extrakce šetrná k životnímu prostředí [23]. Navíc lze CO₂ z výsledného produktu lehce odstranit (sám vytěká), přičemž nijak neovlivňuje kvalitu získaného oleje, nedochází ani k oxidaci. Oproti extrakci organickým rozpouštědlem pak SFE vykazuje vyšší výtěžky z hlediska tokoferolů a sterolů a zároveň nižší obsah volných mastných kyselin, přičemž ve spojení studeného lisování a následné SFE se získá vysoký výtěžek oleje, který lze ihned spotřebovat [21,24].

2.6.1.3 Extrakce mikrovlnným ohřevem

Při použití této extrakční metody hraje klíčovou roli výběr vhodného rozpouštědla. Záleží především na schopnosti rozpouštědla absorbovat mikrovlnné záření, dále na jeho interakci se vzorkem a na rozpustnosti cílové látky v daném rozpouštědle. Zároveň by mělo být rozpouštědlo selektivní především k cílové látce, kompatibilní s metodou analýzy a nevykazovat toxicitu. Nejčastěji se pro MAE využívá směsného rozpouštědla hexan-aceton (1:1), byť tato rozpouštědla, zejména hexan, mají negativní zdravotní účinky. Proto se tyto extrakce také provádí ethanolem k získání zdravotně nezávadného (jedlého) oleje. Existují dva základní typy přístrojů pro MAE: první používá uzavřenou reakční nádobu, ve které je kontrolována teplota a tlak, a druhý používá otevřenou reakční nádobu, která pracuje za atmosférického tlaku a teplota extrakce je limitována teplotou varu rozpouštědla. Otevřené systémy jsou sice levnější, bezpečnější a umožňují jakýkoliv zásah zmenšit během extrakce, ale méně přesné a časově náročné. Uzavřené systémy umožňují rychlejší extrakci hlavně díky vyšší pracovní teplotě – běžně 120 °C (maximum u komerčních přístrojů je teplota 300 °C a tlak 30 MPa). V případě otevřené reakční nádoby vychází přístroj instrumentací i principem extrakce z extrakční aparatury dle Soxhleta, což dalo vzniknout Soxhletově extrakci mikrovlnným zářením (MASE) a dalším modifikacím této metody. Uzavřené systémy nabízejí možnost extrakce více vzorků. Jsou podobné klasické mikrovlnné troubě, kde je na otočném podstavci umístěn karusel s až čtyřiceti místy pro reakční nádoby [25,26]. Vzhledem

k reakčním teplotám a tlakům nemusí být tato metoda vhodná k izolaci PUFA, které jsou náchylné k oxidaci a snadněji degradují. Proto je možné kombinovat nebo zcela nahradit tuto metodu ultrazvukovou extrakcí [27].

2.6.1.4 Extrakce ultrazvukem

Pro extrakci ultrazvukem se také využívá rozpouštědlo. Opět se zde nejčastěji používá rozpouštědlo hexan, pro jedlý olej ethanol. Tato metoda je označována jako „zelená“, protože ze všech výše uvedených extrakčních metod má nejmenší spotřebu energie. Zároveň je citlivější k termolabilním látkám, protože pracuje při nižších teplotách. Ultrazvuk má frekvenci vyšší než 20 kHz. Při průchodu takto intenzivní akustické vlny rozpouštědlem dochází k tvorbě bublinek za poklesu lokálního tlaku, který je následovaný implozí bublinek a rázovou vlnou s destrukčními účinky na okolní materiál. Celý tento jev je známý jako kavitace. Pomocí ultrazvuku dochází k narušení buněčných stěn a k následnému uvolnění obsahu buňky do rozpouštědla [28]. Wong a kol. [29] se ve své práci zabývali přímo extrakcí lískooříškového oleje do ethanolu za použití ultrazvuku se zaměřením na výtěžnost a tuková čísla. Optimální podmínky pro extrakci byly 29 °C, 51 minut extrakce s 90% amplitudou (za použití 130W zdroje a frekvence 20 kHz po dobu 15 minut), a bylo dosaženo výtěžnosti přes 55 %. Při těchto podmínkách získaný olej vykazoval nejmenší množství volných mastných kyselin, nejnižší peroxidové i jodové číslo. Paralelně provedli extrakci za stejných podmínek bez použití ultrazvuku. Zde zjistili, že při použití ultrazvuku dochází k poklesu obsahu volných mastných kyselin a peroxidového čísla, což je žádoucí, nicméně došlo i k poklesu jodového čísla, a tedy k úbytku PUFA [29].

2.6.2 Charakteristika lískoořechového oleje

Složení a profil lískooříškového oleje souvisí s kultivarem keře a s použitou extrakční metodou. Lískové jádro obsahuje přibližně 50–70 % oleje. Vlivem geografického původu, způsobu pěstování a kultivaru je zde rozdíl v obsahu mastných kyselin, TAG, tokoferolů, sterolů a fosfolipidů [21,30,31]. V roce 2019 vydala Codex Committee on Fats and Oils (CCFO) aktualizovaný ucelený přehled s obsahem jednotlivých látek v oleji (Tabulka 3).

Tabulka 3: Přehled obsahu mastných kyselin, sterolů, tokoferolů a tokotrienolů v lískoořechovém oleji, převzato z [32].

Lískooříškový olej			
Mastná kyselina	%	Steroly	
C6:0	ND	Cholesterol	ND–1,1
C8:0	ND	Brassikasterol	ND
C10:0	ND	Kampesterol	3,0–6,2
C12:0	ND	Stigmasterol	ND–2,0
C14:0	ND–0,1	Beta-sitosterol	76,45–96,0
C16:0	4,2–8,9	Delta-5-avenasterol	1,0–5,1
C16:1	ND–0,5	Delta-7-stigmastenol	ND–4,3
C17:0	ND–0,1	Delta-7-avenasterol	ND–1,6
C17:1	ND–0,1	Ostatní	ND
C18:0	0,8–3,2	Celkové steroly (mg·kg ⁻¹)	1200–1800
C18:1	74,2–86,7	Tokoferoly a tokotrienoly	
C18:2	5,2–18,7		
C18:3	ND–0,6		
C20:0	ND–0,3	Alfa-tokoferol	100–420
C20:1	ND–0,3	Beta-tokoferol	6–12
C20:2	ND	Gama-tokoferol	18–194
C22:0	ND–0,2	Delta-tokoferol	ND–10
C22:1	ND–0,1	Alfa-tokotrienol	ND
C22:2	ND	Beta-tokotrienol	ND
C24:0	ND	Gama-tokotrienol	ND
C24:1	ND–0,3	Celkem (mg·kg ⁻¹)	200–600

ND – nebylo detekováno (pod detekčním limitem 0,05 %)

Dle uvedených dat je hlavní komponentou kyselina olejová (C18:1), za ní následují další PUFA – kyselina linolová (C18:2) a kyselina linolenová (C18:3). Ze SFA má největší zastoupení kyselina palmitová (C16:0). Ze sterolů je v největším množství β -sitosterol, z tokoferolů α -tokoferol [32]. Množstvím kyseliny olejové a β -sitosterolu je lískoořechový olej velmi podobný olivovému oleji a je obtížné tyto oleje od sebe z hlediska chemického složení rozlišit, což otevírá možnost pro různé falsifikáty a náhražky olivového oleje [21,31]. Jediným způsobem, jak tyto oleje rozlišit, je provést analýzu zaměřenou pouze na obsah sterolů, protože jedině zde jsou markantní kvalitativní i kvantitativní rozdíly [21].

Je řada vědeckých článků zabývajících se charakteristikou lískooříškového oleje. Topkafa a kol. [18] ve své práci shrnuje výsledky analýz z několika publikací, které se týkaly surového i za studena lisovaného oleje (Tabulka 4 a 5) [21].

Tabulka 4: Analýza surového lískooříškového oleje, převzato z [21].

	Karabulut a kol. (2005)	Altuntas a kol. (2018)	Fernandes a kol. (2017)
VMK (%)	2,1	17,3	–
Celkové tokoferoly ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	518,9	580,8	345,2
Mastná kyselina (%)			
C16:0	5,2	5,1	5,57
C16:1	0,2	0,2	0,23
C17:0	ND	0,0	0,1
C17:1	ND	0,1	0,1
C18:0	2,5	2,3	2,5
C18:1	81,1	81,0	82,3
C18:2	10,7	11,3	8,8
C18:3	0,1	0,1	0,1
Celkové steroly ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	1680,4	–	1787,8

ND – nebylo detekováno, VMK – volné mastné kyseliny

Tabulka 5: Analýza za studena lisovaného lískooříškového oleje, převzato z [21].

	Ciemniewska- Żytkiewicz a kol. (2014)	Ciemniewska- Żytkiewicz a kol. (2015)	Slatnar a kol. (2014)	Castelo- Branco a kol. (2016)	Damirchi a kol. (2005)
Volné mastné kyseliny (%)	0,08–0,09	0,09	ND	3,26	ND
Peroxidové číslo ($\text{meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$)	0,28–1,16	0,79	ND	8,33	ND
Mastná kyselina (%)					
C16:0	6,1–7,1	4,7	ND	6,61	ND
C16:1	0,2–0,3	0,2	ND	ND	ND
C18:0	2,9–3,1	1,5	ND	1,84	ND
C18:1	81,0–82,1	80,4	ND	79,4	ND
C18:2	7,9–8,2	13,2	ND	11,3	ND
C18:3	0,1	0,1	ND	0,08	ND
Celkové tokoferoly ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	ND	342,6	ND	414	ND

ND – nebylo detekováno

Z výše uvedených tabulek je zřejmé, že obsah hlavních komponent, tedy C18:1, C18:2, C18:3 (i C16:0) je ve všech publikacích přibližně stejný a koresponduje s hodnotami zveřejněnými CCFO. Totéž platí o hodnotách celkových sterolů a tokoferolů.

Pokud jde o těkavé sloučeniny přítomné v tomto oleji, jedná se především o kyselinu octovou a hexanal [33], následované směsí dalších sloučenin, jako jsou například 2-methylbutanal, kyselina oktanová, furfural, deriváty pyrazinu atd. V případě rafinovaných olejů je pak celkový obsah těkavých látek výrazně nižší právě kvůli rafinaci, která tyto látky cíleně odstraňuje. U olejů z pražených lískových jader jsou potom vyšší koncentrace furanových a pyranových sloučenin [33,34].

2.7 Používané metody a experimentální postupy

Ke stanovení aromatických látek i mastných kyselin se používá řada experimentálních technik, postupů a metod. Některé vyžadují úpravu vzorku, jiné nikoliv, některé se používají komerčně, jiné spíše v občasných případech. Následuje stručný přehled některých z nich.

2.7.1 Stanovení těkavých (aromatických) látek

Při stanovení těkavých látek v oleji je nezbytná příprava zahrnující jejich izolaci z matrice vzorku a zakoncentrování. Pro extrakci/izolaci ze vzorku se používají různé metody, k analytickému stanovení potom nejčastěji plynová chromatografie a její případné kombinace s hmotnostní detekcí.

2.7.1.1 *Simultánní destilace-extrakce (SDE)*

Je to starší metoda, v současné době využívaná minimálně, lze ji nalézt spíše ve starších publikacích. Je poměrně časově náročná a vyžaduje pečlivost a přesnost, a navíc při manipulaci s extraktem dochází ke značným ztrátám těkavých složek, nicméně je možné stanovit i v tučných rozpustné těkavé látky [35].

Aparatura sestává ze dvou lázní, jedna je olejová a druhá vodní. Směs vody a oleje je zahřívána na lázni silikonového oleje, a rozpouštědlo, např. dichlormethan, na vodní lázni. Obě baňky jsou připojeny na společný chladič, ve kterém kondenzuje jednak rozpouštědlo, a jednak vodní parou vytěsněné těkavé látky z oleje. Používá se chladič, který je určený přímo pro tuto metodu a je schopný zachytit směs rozpouštědla a těkavých látek. Získaná směs může být poté podrobena analýze na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí (GC-MS) nebo lze využít kombinaci metod kapalinové a plynové chromatografie (LC-GC) s UV, resp. plameno-ionizační detekcí (FID) [35].

2.7.1.2 *Hmotnostní spektrometrie s ionizací přenosem protonu (PTR-MS)*

V případě této techniky není nutná jakákoliv příprava nebo úprava vzorku. Zároveň poskytuje výsledky v reálném čase a umožňuje monitorovat složení vzorku v průběhu času. Vzorek je chemicky ionizován pomocí protonu a dále pokračuje do hmotnostního detektoru. Původně byl tento systém vyvinut pro analýzu kvality ovzduší, nicméně postupně začal být využíván i ke stanovení těkavých látek, které vychází z potravin, jako jsou sušené šunky, olivové oleje, káva apod. Jedná se o zajímavou, rychlou a přesnou metodu pro stanovení těkavých látek [36]. Jedinou nevýhodou může být pracovní teplota, která bývá většinou laboratorní, čímž nemusí docházet k dostatečnému uvolňování těkavých látek z matrice vzorku.

2.7.1.3 *Dynamic headspace (DHS, purge and trap)*

Těkavé látky lze z kapalných i rozmělněných pevných vzorků izolovat šetrnou extrakcí plynem, tzv. headspace techniky. Podstatou těchto metod je analýza plynné fáze, která byla v kontaktu s extrahovaným materiálem, v ideálním případě až do ustavení rovnovážné distribuce těkavých látek mezi plynnou a kondenzovanou (kapalnou nebo pevnou) fází, která je popsána distribuční konstantou jednotlivých složek v dané soustavě.

Při tzv. Dynamic Headspace uspořádání dochází k vypouzení těkavých látek z matrice vzorku pomocí inertního plynu, který je dále unáší do pasti, kde se tyto látky na krátkou dobu nasorbují a zdrží se. Poté dojde k přepnutí ventilu, zachytaná celá je zahřáta a látky jsou z druhé strany vypuzeny inertním plynem na kolonu [38].

2.7.1.1 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

V současné době v laboratořích asi nejvíce používaná metoda, která se spojuje se separačními technikami (GC, LC). Není potřeba jakkoliv upravovat vzorek, ani používat rozpouštědla [37]. Vzorek je umístěn ve vialce, prostor nad vzorkem se postupně zaplňuje těkavými látkami (tzv. headspace (HS) uspořádání), až do ustálení rovnováhy. Zpravidla bývá vzorek mírně zahříván k vypuzení těkavých látek z matrice. Do volného prostoru nad vzorkem je následně vnořeno SPME vlákno a dochází k sorpci těkavých látek. V případě spojení s GC je po nasycení vlákno vyjmuto a přímo napíchnuto na kolonu, kde dochází k tepelné desorpci látek, která může být podpořena mobilní fází. Nejčastěji je používáno sestavení HS-SPME-GC s detekcí FID, MS nebo elektronového zachytu (ECD) [38].

2.7.2 Stanovení vázaných a volných mastných kyselin

Ve výše zmíněných metodách nebylo vesměs nutné výrazně upravovat vzorek. U stanovení MK, ať už vázaných (v TAG), nebo VMK, je to naopak. Pokud není měřeným vzorkem přímo olej, tedy čistý tuk, je potřeba tukové látky z matrice vzorku, například kousku sýra, nejprve extrahovat.

2.7.2.1 Extrakční metody

Extrakce dle Soxhleta – jedná se o jednoduchou kontinuální extrakční metodu, která poskytuje poměrně přesné výsledky, nicméně je časově velmi náročná. Do Soxhletova extraktoru je umístěna extrakční patrona se vzorkem, extrakce probíhá nepřetržitě po dobu několika hodin (4–5 hod. v závislosti na typu potraviny), což umožňuje dokonalé proniknutí rozpouštědla vzorkem [39]. Pro lepší výtěžnost je možné, tak jako v případě získávání komerčních olejů v praxi (viz podkapitola 2.6.1), zvýšit efektivitu celého procesu zapojením ultrazvuku nebo mikrovln [40,41].

Extrakce dle Folche – jedna z nejčastěji používaných metod pro extrakci lipidů z matrice vzorku, používá se směs rozpouštědel chloroform/methanol v poměru 2:1 (v/v) [42].

Extrakce směsí diethylether/petrolether – tuto metodu doporučuje norma pro zisk tukových látek ze sýrů (ČSN EN ISO 1735). Zde se využívá také směsi dvou rozpouštědel, konkrétně směsi diethylether/petrolether v poměru 1:1 [43].

2.7.2.2 Stanovení mastných kyselin

Stanovení MK nejčastěji probíhá pomocí plynové chromatografie. Předpokladem je těkavost stanovovaných látek, což je zejména u vyšších MK kvůli vysokým bodům varu obtížné. Proto se využívá úprava vzorku derivatizací MK na těkavější methylestery (MEMK) pomocí esterifikace. Zpravidla se jedná o esterifikaci za použití kyseliny jako katalyzátoru (tzv. kyselá esterifikace). Jelikož má být výsledkem methylester, používají se bezvodé methanolické roztoky těchto katalyzátorů. Lze připravit deriváty i vyšších esterů, ale methylestery se vyznačují největší těkavostí. Pokud je cílem primárně stanovit volné mastné kyseliny, nechá se spolu za varu reagovat tuk a bezvodý methanolický roztok kyselého katalyzátoru. Během krátké doby dojde k vytvoření cílových MEMK (kratší doba je důležitá k zamezení transesterifikace vázaných MK). Podobný postup se volí ke stanovení vázaných MK. Nejprve musí proběhnout v nadbytku bezvodého methanolického roztoku hydroxidu bazická transesterifikace vázaných MK a poté, v nadbytku bezvodého methanolického roztoku kyseliny, kyselá esterifikace VMK. Celá reakce je v řádu desítek minut. Takto je získána směs volných i vázaných MK. Množství

vázaných MK lze po kvantifikaci zjistit po odečtení VMK od celkového množství MK ve směsi [44].

2.7.3 Základní tukové charakteristiky

Při zkoumání neznámého vzorku tuku dochází vedle podrobnějšího stanovení volných a vázaných mastných kyselin také ke stanovení obecných vlastností tuku. K tomu slouží základní tukové charakteristiky, které se v praxi často používají pro jednoduchou orientační charakterizaci tuku. Jedná se o pět níže zmíněných základních čísel, která vypovídají o parametrech zkoumaného tuku.

Číslo kyselosti (ČK) – udává množství VMK v tuku, vyjadřuje se jako počet miligramů KOH potřebných k neutralizaci VMK v 1 gramu tuku nebo jako procentuální množství VMK ve vzorku. Vzorek tuku je rozpuštěn v ethanolu za zahřívání, poté je přidán indikátor fenolftalein a ihned je titrován roztokem KOH.

Číslo zmydlnění (ČZ) – vyjadřuje množství celkových kyselin v tuku (volných i vázaných), vyjadřuje se jako počet miligramů KOH potřebných k neutralizaci všech mastných kyselin v 1 gramu tuku. Vzorek je zmydlněn v nadbytku roztoku hydroxidu a přebytečný hydroxid se stanoví zpětnou titrací HCl na fenolftalein, za současného provedení slepého pokusu.

Esterové číslo (EČ) – je vyjádřeno jako rozdíl čísla zmydlnění a čísla kyselosti, udává množství esterově vázaných mastných kyselin v 1 gramu tuku.

Jodové číslo (JČ) – vypovídá o míře nenасыcenosti tuku, vyjadřuje hmotnost jodu v gramech, která se aduje na 100 gramů tuku. Roztok jodmonobromidu se v nadbytku nechá reagovat se vzorkem tuku, jodidem draselným je následně nezreagované činidlo převedeno na jod, který je stanoven thiosíranem na indikátor škrobový maz, za současného provedení slepého pokusu.

Peroxidové číslo (PČ) – udává množství peroxidů v tuku, které jsou schopny oxidovat jodid na jod. Vyloučený jod je stanoven titrací thiosíranem sodným na indikátor škrobový maz. Vyjadřuje se buď jako μmol kyslíku v 1 gramu tuku (případně $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku) nebo jako meq O_2 v 1 kg tuku (miliэкvivalent peroxidového kyslíku), přičemž $1\text{mmol} = 2\text{ meq}$ [45].

CCFO [32] uvádí pro lískoořechový olej pouze dvě hodnoty – ČZ by se mělo pohybovat v rozmezí $188\text{--}198\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a JČ v rozmezí $81\text{--}95\text{ g} \cdot 100\text{ g}^{-1}$. Pro srovnání, u olivového oleje, který je, jak již bylo zmíněno, lískoořechovému velmi podobný, uvádí více hodnot – ČZ $184\text{--}196\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, JČ $75\text{--}94\text{ g} \cdot 100\text{ g}^{-1}$, $\text{PČ} \leq 5,0\text{ meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ pro rafinované a $\leq 20,0\text{ meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ pro za studena lisované oleje [32].

Jokić a kol. [23] uvádí ve své práci naměřené hodnoty lískoořechového oleje – ČK 0,23 %, ČZ $191,46\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, JČ $91,55\text{ g} \cdot 100\text{ g}^{-1}$, PČ $0\text{ mmol O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ [23].

2.7.4 Senzorické hodnocení sýrů a sýrových analogů

Senzorická analýza vzorku spočívá v jeho zhodnocení prostřednictvím našich smyslů včetně zpracování daných informací centrálním nervovým systémem na vjem. Jsou hodnoceny vjemy zrakové, čichové, sluchové, chuťové, taktilní, kinestetické, teplotní a vjemy bolesti. Výsledky senzorické analýzy však nutně nemusí korespondovat s analýzou fyzikálně-chemickou – vzorek potravin může být dle fyzikálně-chemické stránky naprosto v pořádku, nicméně senzoricky může být nepříjemný.

Člověk hodnotí potraviny komplexně, s využitím všech smyslů, teprve školením je schopen rozpoznávat jednotlivosti. Nejprve se hodnotí přijatelnost a příjemnost vjemu (hedonické hodnocení) a poté intenzita vjemu (intenzitní hodnocení) [46].

Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou se hodnotí podle následujících kritérií:

Balení – obal čistý, správně uzavřený, bez závad, správně označený s centrálně umístěnou etiketou, všechny údaje čitelné.

Barva a vzhled – čistý, hladký povrch bez poškozených míst, barva na řezu smetanová až sýrově žlutá, tvar pravidelný, vyrovnaný s mírně vypouklými stranami, u klasického zrání ojedinělé skvrny na pokožce.

Konzistence – celistvá, u tučných sýrů jemná, vláčná, pružná. U sýrů, které mají obsah tuku v sušině 30 %, je konzistence tužší, polotvrdá. Na řezu je menší počet ok, příp. žádná oka, mírné provzdušnění není na závadu.

Chut' a vůně – výrazná, sýrově mléčně jemná s mírně hořkomandlovou nebo čistě mléčně nakyslou příchutí [46].

Chut' a vůně sýrů, a s nimi související obsah aromatických látek, jsou blíže popsány v podkapitole 2.4. V souvislosti s celkovou senzoryckou kvalitou sýrů je třeba se zmínit i o konzistenci (textuře) sýra. Jedná se o celkový vjem, který je vytvořen na základě fyzikálních vlastností sýra a je spojen s hmatem (včetně pocitu v ústech), zrakem a sluchem. V podstatě se jedná o charakteristiku, kterou lze posoudit pouze pomocí těchto smyslů. Soubor vlastností lze rozdělit do tří skupin – mechanické (znatelné v ústech na jazyku či při kousání, a sluchem v případě zlomu, křupnutí apod.), geometrické (pozorovatelné hlavně zrakem), a ostatní (zahrnují pouze subjektivní pocity v ústech – suché, šťavnaté, tvrdé, měkké, křupavé atd.).

Některé vlastnosti textury je možné měřit i pomocí přístrojů, které jsou schopny poskytnout kvantifikovatelná data. Jedná se o vlastnosti jako tvrdost, lepivost, soudržnost, elasticita, viskozita, křehkost, žvýkatelnost a gumovitost [47].

Souhrnně lze požadavky na senzoryckou kvalitu sýrů shrnout do následující tabulky (Tabulka 6):

Tabulka 6: Obecné schéma hodnocení sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou, převzato z [48].

Kritérium	Standardní výrobek	Menší závada	Nestandardní výrobek
Vzhled a barva	Hladká, jemná kůra, nepoškozená, nedeformovaná. Sytě sýrově žlutá, matně lesklá.	Nepravidelný tvar, nečistá kůra. Bledá nebo naopak příliš silná barva.	Mazovitý povrch, plynové bublinky. Skvrnitá, nestejnorodá.
Konzistence	Pevná, vláčná, v prstech jemně roztíratelná, na řezu 2 až 4 pravidelné dírký velikosti hrášku, pravidelné rozvrstvení.	Málo nebo mnoho dírek, drobné jádro uprostřed.	Zduřelá, síťovitá.
Chut' a vůně	Čistá, mléčná, typická pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou, příjemně nakyslá.	Mírně nakyslá, slabě nahořklá, prázdná, netypická.	Příliš slaná, hořká, kyselá, pálivá, zatuchlá, hnilobná.

K výslednému hodnocení náleží i některé odchylky od typických znaků zmíněných výše. Následuje jen krátký výčet vad:

Vady balení – porušený, znečištěný nebo nevhodný obal, nevhodná barva, nečitelné nebo špatné označení.

Vady barvy a vzhledu – silná kůra, mírně až hrubě skvrnitá, prasklý nebo jinak deformovaný tvar, hnilobná hnízda, nerovnoměrná případně nepřírozená barva, vlhký povrch pod fólií, přítomnost cizích plísní, mazivost, oslizenutí.

Vady konzistence uvnitř sýrů – trhliny v těstě, duření, uvolňující se syrovátka, drobivost, nepravidelné zrání, mnoho ok.

Vady konzistence na povrchu sýrů – odtržená pokožka, nepravidelný tvar (nepečlivost při formování a lisování), příliš měkká nebo tvrdá kůra (souvisí se špatným dohříváním sýřeniny).

Vady chuti a vůně – zatuchlá, hnilobná, čpavá, mýdlovitá, kvasničná, ostrá nebo jinak cizí chuť a vůně, dále chuť nahořklá, kyselá, žluklá aj. [46].

Šustová [48] dále popisuje mikrobiální vady sýrů:

Hnidovitost sýrů – způsobená koliformními bakteriemi, charakteristická velkým množstvím drobných ok, špatnou a nečistou chutí a zápachem (Obrázek 5).



Obrázek 5: Hnidovitost sýrů, převzato z [48].

Pozdní duření sýrů – způsobené bakteriemi máselného kvašení *Clostridium butyricum*, *Clostridium tyrobutyricum* s charakteristickou štiplavou, palčivou chutí a výrazným zápachem po máselné kyselině, a současnou tvorbou „ořechových“ ok (Obrázek 6).

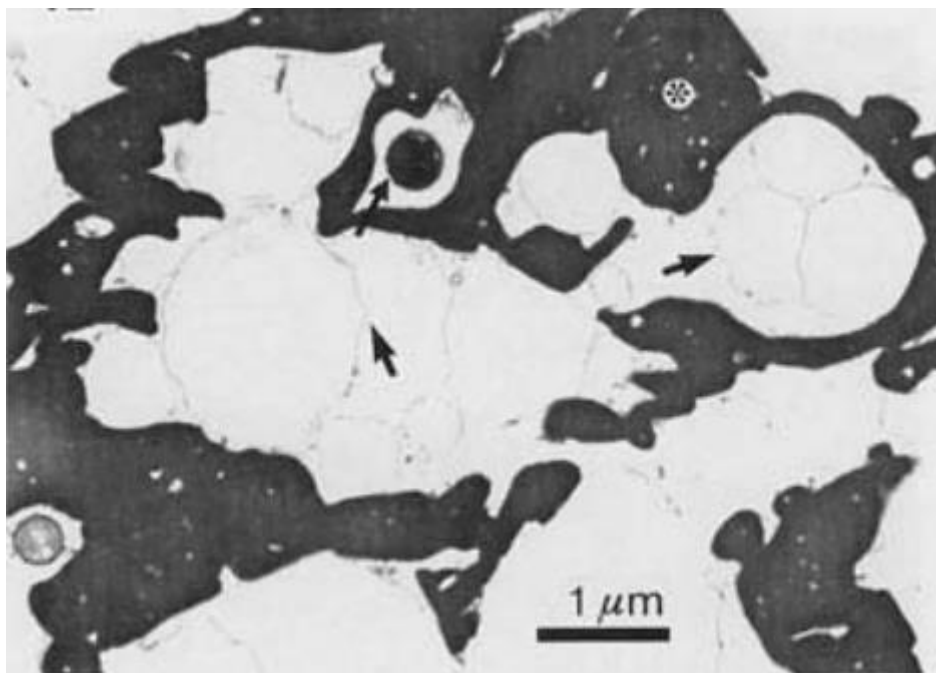


Obrázek 6: Pozdní duření sýrů, převzato z [48].

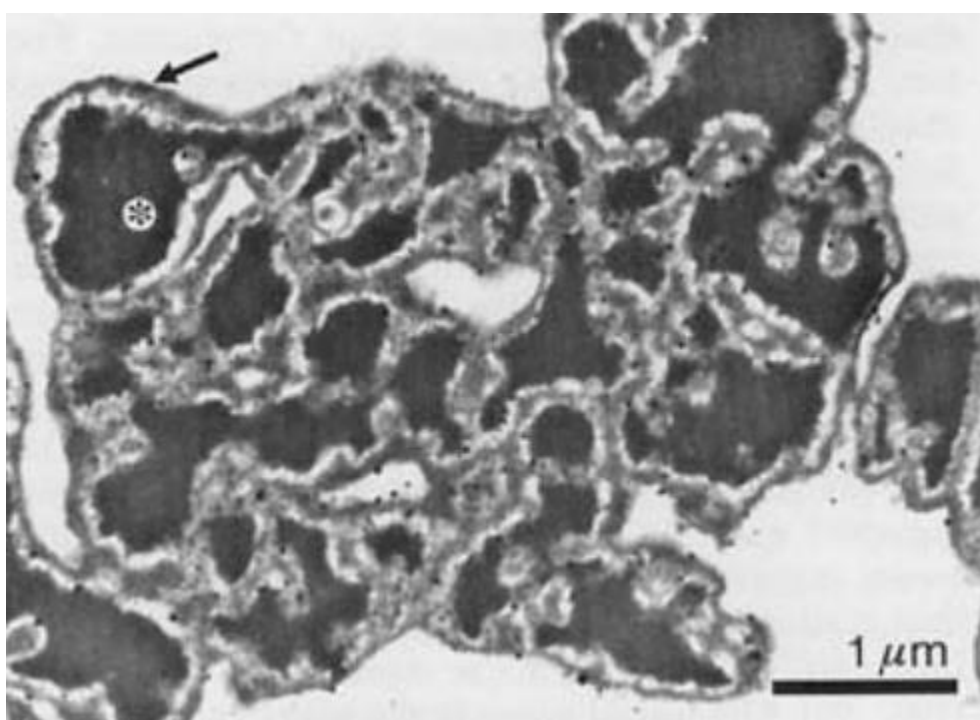
2.7.5 Elektronová mikroskopie

K posouzení mikrostruktury sýrů se dá využít elektronové mikroskopie. Ta, oproti klasické optické mikroskopii, používá svazek elektronů fokusovaný pomocí elektromagnetů. Velké zvětšení a rozlišení poskytují detailní obraz o struktuře vzorku a mohou i napovědět o jeho materiálovém složení [49].

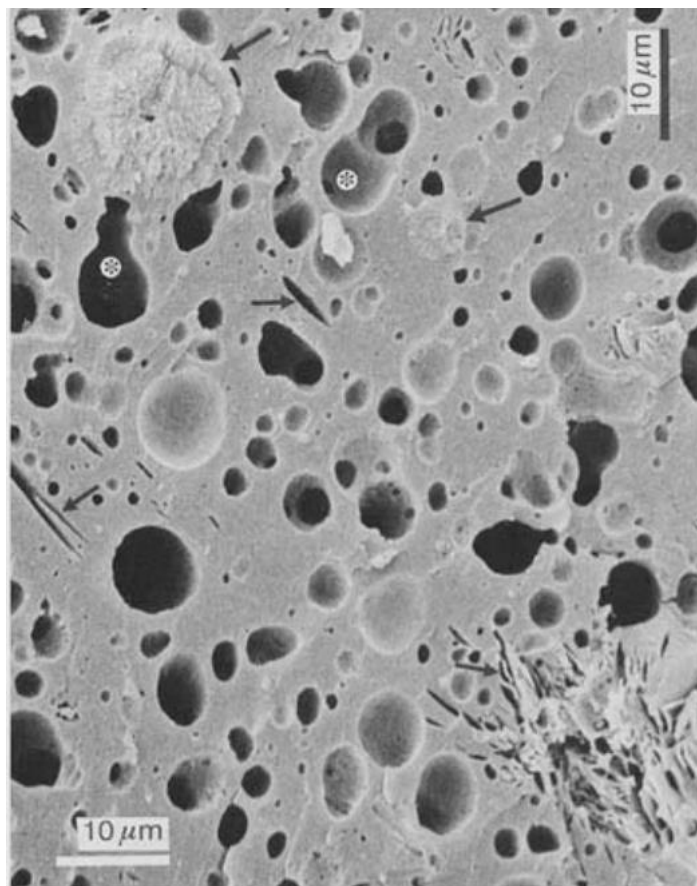
Kaláb [50] se ve své práci soustředil na využití skenovací elektronové mikroskopie (SEM) a tzv. *cryo*-SEM (určené pro zkoumání struktury mražených potravin). Identifikoval tím strukturu sýrů na molekulární úrovni. Zabýval se mj. tvrdými a tavenými sýry, na Obrázcích 7–9 jsou patrné typické rozdíly ve struktuře sýrů tvrdých, čerstvých a tavených. U tvrdého sýra, který byl vyroben klasickým postupem, je vidět pevnější struktura, shluky bílkovin a tuku (Obrázek 7). Čerstvý sýr, který vzniká kyselým srážením, je patrná rozvolněnější struktura s typickým uspořádáním tzv. *core-and-shell*, což lze přeložit jako jádro a obal (Obrázek 8). Tavený sýr, který mimo sýra obsahuje i tavicí soli, emulgátory a jiné látky, obsahuje také větší množství vzduchových bublinek, a tím je jeho struktura poznamenána (Obrázek 9). [50].



Obrázek 7: Struktura tvrdého sýra, krátké šipky reprezentují tukové globule, dlouhá šipka ukazuje na bakterii, a hvězdička označuje kompaktní proteinovou hmotu tvořenou kaseinem, převzato z [50].



Obrázek 8: Čerstvý sýr s typickou core (hvězdička) a shell (šipka) strukturou, převzato z [50].



Obrázek 9: Struktura taveného sýra, hvězdičkou jsou označeny tukové globule v procesu emulzifikace, krátké šipky ukazují na tavící soli a dlouhé na fosforečnan vápenatý, převzato z [50].

Prokázal tím, že pomocí elektronové mikroskopie lze odhalit molekulární strukturu daného materiálu a že je možné identifikovat příměsi v mléčném výrobku a odhalit tak případné falsifikáty. Přestože vyzdvihuje tuto techniku jako velmi důležitou v rozboru mléčných produktů, přiznává, že vzhledem k vysokým pořizovacím nákladům nejen mikroskopu, ale i příslušenství, není tato technika zatím běžnou součástí analýzy mléčných produktů [50].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité laboratorní vybavení a chemikálie

3.1.1 Laboratorní přístroje

- Váhy analytické GR-202-EC, HELAGO, Itálie
- Vodní lázeň se stojany, Julabo TW 2, Německo
- Topné hnízdo 100 ml, BRNĚNSKÁ DRUTĚVA v.d., Česká republika
- Plynový chromatograf TRACE GC 2000, (ThermoQuest Italia S. p. A, Itálie) s plameno-ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a s kapilární kolonou DB-WAX s vysoce polární stacionární fází (PEG) o rozměrech 30 m x 0,32 mm x 0,50 μ m
- PC-pracovní stanice, POWER PROFIT
- Plynový chromatograf TraceTM 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní detektor ISQTM LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Vakuová rotační odparka, KIKA®-WERKE, Německo
- Lednice a mrazák ERB nerez, Elektrolux, Švédsko

3.1.2 Laboratorní pomůcky

- Běžné laboratorní sklo a vybavení
- Automatická mikropipeta 100–1 000 μ l, labopette®, Německo
- Automatická mikropipeta 100–1 000 μ l, sartorius, Německo
- Automatická mikropipeta 10–100 μ l, BIOHIT, Finsko
- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 μ m, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA
- Vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem
- Vialky o objemu 2 a 4 ml

3.1.3 Chemikálie pro kyselou esterifikaci

- Bortrifluorid methanolický roztok 10 %, SIGMA-ALDRICH, Německo
- Isooktan p. a., SIGMA-ALDRICH, Německo
- Chlorid sodný p. a., PENTA, Česká republika
- Destilovaná voda, FCH VUT
- Síran sodný bezvodý p. a., Lach:ner, Česká republika
- Methanol p. a., Lach:ner, Česká republika
- Hydroxid sodný p. a., PENTA, Česká republika

3.1.4 Chemikálie pro extrakci tuku

- Kyselina chlorovodíková 35 % p. a., PENTA, Česká republika
- Ethanol 96 % obj. p. a., SIGMA-ALDRICH, Německo

- Diethylether p. a., PENTA, Česká republika
- Petrolether p. a., PENTA, Česká republika

3.1.5 Chemikálie pro základní tukové charakteristiky

- Ethanol 96 % obj. p. a., SIGMA-ALDRICH, Německo
- Fenolftalein
- Hydroxid draselný p. a., PENTA, Česká republika
- Chloroform čistý, stabilizovaný 1 % ethanolu, PENTA, Česká republika
- Thiosíran sodný pentahydrát
- Jodid draselný
- Kyselina octová p. a., PENTA, Česká republika
- Hanušovo činidlo
- Škrobový maz

3.1.6 Chemikálie pro stanovení mastných kyselin

- Hexan p. a., Lach:ner, Česká republika
- Směsný standard metylesterů mastných kyselin, Supelco™ 37 Component FAME Mix, SIGMA-ALDRICH, Německo

3.1.7 Plyny pro plynový chromatograf

- Vodík 5.5, SIAD v tlakové bombě s redukčním ventilem
- Vzduch 5.0, SIAD v tlakové bombě s redukčním ventilem
- Dusík 5.0, SIAD v tlakové bombě s redukčním ventilem
- Helium 4.8, SIAD v tlakové bombě s redukčním ventilem

3.2 Analyzované vzorky

V experimentální části diplomové práce byly analyzovány modelové vzorky přírodních sýrů a sýrových analogů eidamského typu, vyrobené standardním technologickým postupem (viz podkap. 2.2) na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně.

Byly vyrobeny dva vzorky – analog s přídavkem lískoořechového oleje (zakoupeného v běžné tržní síti) (sušina 76 %, t. v s. 61 %) a sýr obsahující pouze mléčný tuk (kontrolní vzorek, sušina 68 %, t. v s. 54 %), viz podkap. 4.3. Po ukončení zrání (12 °C, 85% vlhkost, 2 měsíce) byly vzorky zmrazeny (-18 °C) a uchovány až do doby analýz.

Při senzorickém hodnocení byly modelové vzorky navíc porovnány se standardem, tj. komerčně dostupný sýr Eidam (30 % t. v s., sušina 50 %).

3.3 Použité metody a experimentální postupy

3.3.1 Stanovení základních tukových charakteristik

Stanovení čísla kyselosti – do titrační baňky bylo odváženo 5 g oleje s přesností 0,01 g, ke vzorku bylo přidáno 100 ml ethanolu a varné kuličky, následně byl vzorek zahříván k varu,

poté byl přidán fenolftalein a ihned za horka byla provedena titrace odměrným roztokem KOH ($c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) do bodu ekvivalence. Výpočet ČK byl proveden dle vztahu (1).

$$\check{C}_k = \frac{c_{\text{KOH}} \cdot V_{\text{KOH}} \cdot M_{\text{KOH}}}{m_{\text{vz}}} \quad [\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}] \quad (1)$$

c_{KOH} – koncentrace odměrného roztoku KOH ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)

V_{KOH} – objem odměrného roztoku KOH spotřebovaného na titraci vzorku [ml]

m_{vz} – navážka vzorku [g]

$M_{\text{KOH}} = 56,106 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

Stanovení čísla zmydlnění – do destilační baňky byly odváženy 2 g oleje s přesností 0,01 g, bylo přidáno 25 ml KOH ($c = 0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), varné kuličky a pod zpětným chladičem a na topném hníždě bylo provedeno zmydlnění po dobu 30 min, následně byl do horkého roztoku přidán fenolftalein a ihned byla provedena titrace odměrným roztokem HCl ($c = 0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) do bodu ekvivalence; souběžně byl proveden i slepý pokus. Výpočet byl proveden podle vztahu (2).

$$\check{C}_z = \frac{M_{\text{KOH}} \cdot c_{\text{HCl}} \cdot (V_{\text{sl}} - V_{\text{vz}})}{m_{\text{vz}}} \quad [\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}] \quad (2)$$

V_{sl} – spotřeba HCl na titraci slepého pokusu [ml]

V_{vz} – spotřeba HCl na titraci vzorku [ml]

m_{vz} – navážka vzorku [g]

$c_{\text{HCl}} = 0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$

$M_{\text{KOH}} = 56,106 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

Stanovení esterového čísla – bylo provedeno výpočtem rozdílu čísla zmydlnění a čísla kyselosti.

Stanovení jodového čísla podle Hanuše – do Erlenmayerovy baňky se zábrusem bylo naváženo 0,5 g oleje s přesností 0,01 g, bylo přidáno 10 ml chloroformu k rozpuštění oleje, následně bylo přidáno 25 ml Hanušova činidla (jodmonobromid) a baňka byla uzavřena zátkou ovlhčenou roztokem jodidu draselného k zadržení unikajícího jodu. Poté byl obsah baňky promíchán a na hodinu umístěn na tmavé místo. Dále bylo přidáno 25 ml roztoku jodidu draselného, zátka byla opláchnuta destilovanou vodou do baňky, bylo přidáno 100 ml destilované vody a byla provedena titrace odměrným roztokem thiosíranu sodného ($c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) do oranžového zbarvení. Následně byl přidán škrobový maz a pokračovalo se v titraci až do odbarvení horní vodné fáze. Souběžně s tím byl připraven slepý pokus. Výpočet jodového čísla byl proveden podle vztahu (3).

$$J_{\check{c}} = \frac{(V_{\text{sl}} - V_{\text{vz}}) \cdot c_{\text{thios}} \cdot M_{\text{jod}}}{10 \cdot m_{\text{vz}}} \quad [\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}] \quad (3)$$

V_{sl} – spotřeba roztoku thiosíranu na slepý pokus [ml]

V_{vz} – spotřeba roztoku thiosíranu na vzorek [ml]

m_{vz} – navážka vzorku [g]

$c_{\text{thios}} = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$

$M_{\text{jod}} = 126,9 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

Stanovení peroxidového čísla – do Erlenmayerovy baňky se zábrusem byly naváženy 3 g oleje s přesností 0,01 g, poté bylo přidáno 50 ml směsi kyseliny octové a chloroformu, 1 ml jodidu draselného a obsah baňky byl krouživými pohyby promíchán. Uzavřená baňka byla nechána 20 min ve tmě, následně bylo přidáno 100 ml destilované vody, obsah baňky byl protřepán a titrován odměrným roztokem thiosíranu sodného ($c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) téměř do odbarvení, poté byl přidán škrobový maz až do odbarvení horní vrstvy. Výpočet byl proveden podle vztahu (4).

$$P_{\xi} = 1000 \cdot \frac{c_{\text{thios}} \cdot V_{\text{thios}}}{m_{\text{vz}}} \quad [\mu\text{mol (1/2 ROOH)} \cdot \text{g}^{-1}] \quad (4)$$

$V_{\text{thios-vz}}$ – spotřeba roztoku thiosíranu na vzorek [ml]

m_{vz} – navážka vzorku [g]

$c_{\text{thios}} = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$

3.3.2 Stanovení volných a vázaných mastných kyselin

3.3.2.1 *Extrakce směsí diethylether/petrolether*

Pro extrakci tuku z matrice byla použita normou doporučená extrakce pro získ tukových látek ze sýrů (ČSN EN ISO 1735). Do zkumavky byl odvážen 1 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa a byl hydrolyzován 5 ml kyseliny chlorovodíkové na vodní lázni o teplotě 80 °C. Po ochlazení byl obsah zkumavky kvantitativně převeden ethanolem do dělicí nálevky a bylo přidáno 18 ml směsi rozpouštědel. Následně byla směs protřepána, čímž došlo k rozpuštění tukové složky v organické fázi, a nechala se odstát do zřetelného rozdělení fází. Poté byla horní fáze odebrána do předem zvážené destilační baňky. Tento postup byl opakován ještě dvakrát s použitím polovičního množství rozpouštědla. Po spojení extraktů následovalo odpaření směsi rozpouštědel na vakuové rotační odparce a zvážení destilační baňky s vyextrahovaným tukem.



Obrázek 10: Extrakce směsí diethylether/petrolether.

3.3.2.2 Příprava methylesterů mastných kyselin

Vyextrahovaný tuk bylo možné ihned podrobit kyselé esterifikaci s methanolickým roztokem bortrifluoridu jako katalyzátorem. Princip je blíže popsán v podkapitole 2.7.2.3. Postup esterifikace se mírně liší pro vázané (TAG) a volné (VMK) mastné kyseliny.

Do baňky k vyextrahovanému tuku byly přidány 4 ml methanolického roztoku NaOH a varný kamínek, následně byla směs zahřívána na topném hnízdě pod zpětným chladičem až do vymizení kapének tuku. Tento krok byl zařazen pouze pro získání TAG. Následný postup byl společný pro TAG i VMK. Ihned bylo přidáno 5 ml methanolického roztoku bortrifluoridu (přes zpětný chladič přímo do vroucí směsi, resp. do baňky k vyextrahovanému tuku) a směs byla přivedena do varu. Celková doba varu byla v případě TAG 30 minut a v případě VMK 3 minuty. Po uplynutí doby byly přes chladič přidány 3 ml isooktanu k ukončení varu, baňka byla vyjmuta z topného hnízda a chladiče a ihned bylo přidáno přibližně 20 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného. Následovalo půlminutové protřepání a dolití baňky nasyceným roztokem až k jejímu hrdlu. Po oddělení fází byly odebrány cca 2 ml z horní isooktanové vrstvy do 4ml vialky, do které bylo následně přidáno malé množství bezvodého síranu sodného k odstranění vlhkosti. Z tohoto roztoku byl odebrán 1 ml do vialky k analýze na plynovém chromatografu.

Methanolický roztok NaOH ($0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) byl připraven rozpuštěním 2 g NaOH ve 100 ml methanolu.

3.3.2.3 *Podmínky stanovení methylesterů mastných kyselin*

- Plynový chromatograf TRACETM GC 2000 (ThermoQuest Italia S. p. A, Itálie)
- Autosampler AI/AS 3000
- Kapilární kolona DB-WAX s vysoce polární stac. f. (PEG); (30 m × 0,32 mm × 0,5 μm)
- Oven-teplotní program:
50 °C 1 minutu
Vzestupný gradient 25 °C·min⁻¹ do 200 °C s výdrží 0 minut
Vzestupný gradient 3 °C·min⁻¹ do 230 °C se zdržením 30 minut
Celková doba analýzy: 47 minut
- Vstup:
Teplota injektoru: 250 °C
Dávkování: splitless (ventil uzavřen 1 minutu), split flow 10 ml/min
Dávkovaný objem vzorku: 1 μl
- Nosný plyn:
Průtok dusíku: 1 ml·min⁻¹
- Plameno-ionizační detektor (FID):
Teplota detektoru: 250 °C
Průtok vzduchu: 350 ml·min⁻¹
Průtok vodíku: 35 ml·min⁻¹
Make-up dusíku: 30 ml·min⁻¹

3.3.2.4 *Identifikace mastných kyselin*

Identifikace jednotlivých MEMK v modelových vzorcích byla provedena na základě porovnání retenčních časů separovaných sloučenin s retenčními časy standardů

Kvantifikace byla provedena výpočtem z plochy píku MEMK ve vzorku a známé koncentrace a plochy píku standardu. Potřebné parametry standardů jsou uvedeny v Tabulce 7. Zastoupení MK je vyjádřeno v mg·g⁻¹ vyextrahovaného tuku.

Tabulka 7: Přehled standardů pro identifikaci a kvantifikaci MEMK.

Zkrácený zápis MK	T_R [min]	c_s [mg · ml ⁻¹]	P_s [mV · s]	Mr_{MEMK} [g · mol ⁻¹]	Mr_{MK} [g · mol ⁻¹]
C4:0	4,35	0,04	3125173	102,133	88,106
C6:0	5,59	0,04	3194222	130,187	116,16
C8:0	6,75	0,04	4061317	158,241	144,214
C10:0	7,88	0,04	4223169	186,295	172,268
C11:0	8,5	0,02	2210409	200,322	186,295
C12:0	9,2	0,04	4640412	214,349	200,322
C13:0	10	0,02	2365835	228,376	214,349
C14:0	10,96	0,04	4953419	242,403	228,376
C14:1 ^{Δ9}	11,39	0,02	2366989	240,387	226,36
C15:0	12,08	0,02	2470555	256,43	242,403
C15:1 ^{Δ10}	12,59	0,02	2447994	254,414	240,387
C16:0	13,41	0,06	8071065	270,457	256,43
C16:1 ^{Δ9}	13,83	0,02	2520590	268,441	254,414
C17:0	14,92	0,02	2544888	284,484	270,457
C17:1 ^{Δ10}	15,4	0,02	2489531	282,468	268,441
C18:0	16,63	0,04	5174886	298,511	284,484
C18:1 ^{Δ9}	17,06	0,04	9238057	296,495	282,468
C18:2 ^{Δ9,12}	17,96	0,02	4897549	294,479	280,452
C18:3 ^{Δ6,9,12}	18,62	0,02	2376273	292,463	278,436
C18:3 ^{Δ9,12,15}	19,38	0,02	2266846	292,463	278,436
C20:0	21,08	0,04	4888960	326,565	312,358
C20:1 ^{Δ11}	21,71	0,02	2433557	322,533	308,506
C20:2 ^{Δ11,14}	23,2	0,02	2504386	322,533	308,506
C21:0	24,18	0,02	4522345	340,592	326,565
C20:3 ^{Δ8,11,14}	24,99	0,02	2016421	320,517	306,49
C20:4 ^{Δ5,8,11,14}	25,55	0,02	2213031	318,501	304,474
C22:0	27,68	0,04	2046415	354,619	340,592
C20:5	28,27	0,02	4092799	316,477	302,451
C22:1 ^{Δ13}	29,31	0,02	2010098	352,603	338,576
C22:2 ^{Δ13,16}	31,84	0,02	1902903	350,587	336,56
C23:0	33,46	0,02	1619779	368,646	354,619
C24:0	40,9	0,4	21464940	382,673	368,646
C24:1 ^{Δ15}	42,08	0,2	7602600	380,657	366,63

T_R – retenční čas MEMK, c_s – koncentrace standardů MEMK, P_s – plocha standardů MEMK, Mr_{MEMK} – molekulová hmotnost MEMK, Mr_{MK} – molekulová hmotnost MK

3.3.3 Stanovení těkavých (aromatických) látek

3 g vzorku byly před stanovením nhrubo nakrájeny a umístěny do vialky se šroubovacím magnetickým uzávěrem, vialka byla následně umístěna do autosampleru pro analýzu.

3.3.3.1 Podmínky SPME extrakce

- SPME vlákno: DVB/CAR/PDMS 50/30 μm , (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA)
- Doba inkubace (temperování): 10 minut
- Doba extrakce: 20 minut
- Teplota extrakce a inkubace: 40 °C
- Hloubka ponoření vlákna do vialky: 20 mm

3.3.3.2 Podmínky GC-MS analýzy

- Kapilární kolona: TG-WaxMS, parametry kolony: 30 m \times 0,25 mm \times 0,5 μm
- Teplota desorpce (teplota injektoru): 240 °C
- Doba desorpce: 20 minut
- Hloubka ponoření vlákna do injektoru: 40 mm
- Technika dávkování: splitless (ventil uzavřen 10 minut)
- Nosný plyn: helium, 1 ml \cdot min⁻¹
- Teplotní program: 40 °C s výdrží 2 minuty
vzestupný gradient 3 °C \cdot min⁻¹ do 110 °C s výdrží 10 minut
vzestupný gradient 3 °C \cdot min⁻¹ do 200 °C s výdrží 0 minut
Celková doba analýzy: 65 minut
- Detektor: hmotnostní spektrometr
- Ionizace plynné fáze: elektronová ionizace
- Teplota iontového zdroje: 200 °C
- Typ analyzátoru: kvadrupólový analyzátor
- Skenovací rozsah m/z: 30–370 amu
- Rychlost skenování: 0,2 s

3.3.3.3 Identifikace a kvantifikace těkavých látek

Aromaticky aktivní látky byly identifikovány pomocí knihovny spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA). Obsah identifikovaných sloučenin je vyjádřen semikvantitativně pomocí ploch příslušných píků na chromatogramu.

3.3.4 Senzorické hodnocení

Vzorky byly nakrájeny na kostky cca 2 cm, hodnotitelům byly předkládány na Petriho miskách označených kódem. Jako chuťový neutralizátor byla použita voda.

Hodnotitelskou komisi tvořila skupina 5 „expertů“ (3 ženy, 2 muži), z řad zaměstnanců a studentů FCH VUT a Mendelu, znalých problematiky technologie výroby sýrů a senzorického hodnocení.

Hodnotil se vzhled a barva, textura, vůně, chuť a celková přijatelnost vzorku. Byly použity párové metody porovnávání se standardem (komerční Eidam 30 % t. v s.), hodnocení pomocí popisných stupnic, a nakonec jednoduché hedonické hodnocení, kde mohli hodnotitelé vyjádřit svůj celkový dojem. Formulář pro senzorické hodnocení je uvedený v Příloze 1.

3.3.5 Elektronová mikroskopie

Z modelových vzorků sýrového analogu a kontrolního vzorku byly připraveny preparáty. Nožem byl po celé délce vzorku odříznut přibližně 3mm plátek, který se nechal na vzduchu při pokojové teplotě přes noc vyschnout. Pracovník společnosti Thermo Fisher Scientific Brno s. r. o. poté umístil preparát do vakuové komory, ve které byl povrch preparátu pokoven slitinou Au/Pd (6:4). Až po této úpravě vzorku bylo možné jej pozorovat pod elektronovým mikroskopem. Snímky byly pořízeny pomocí přístroje Thermo Scientific Helios 5 CX v měřítku 1 mm, 500 μm , 300 μm a 100 μm .

3.4 Statistické vyhodnocení výsledků

Data byla zpracována v programu Microsoft Excel Office 365. Každé měření bylo provedeno třikrát ($n = 3$), výsledky jsou uvedeny ve tvaru průměr \pm směrodatná odchylka, příp. graficky, chybové úsečky vyjadřují směrodatnou odchylku měření.

Výsledky senzorické analýzy jsou prezentovány graficky jako absolutní četnost (tj. počet odpovědí v dané kategorii).

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce je pilotní částí studie, která se bude zabývat výrobou a následnou charakterizací modelových vzorků sýrových analogů.

Sýrové analogy jsou výrobky podobné sýrům, při jejich výrobě je však některá ze základních mléčných komponent (bílkovina, tuk) nahrazena jinou, nemléčnou složkou [1–3]. Pro první experimenty byla vybrána jednoduchá a v praxi nejčastěji používaná varianta – náhrada mléčného tuku rostlinným olejem. V praxi se používá, vzhledem k jeho nízké ceně a dostupnosti, palmový olej, pro naše účely však byly zvoleny ořechové oleje, které mohou výrobek obohatit nejen z hlediska sensorického, ale také nutričního, např. zvýšeným obsahem nenasycených MK.

Modelové vzorky budou vyráběny ve spolupráci s Ústavem technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně, cílem bude vyrobit sensoricky atraktivní produkt s vysokou nutriční hodnotou.

4.1 Výroba modelových vzorků

V rámci této práce byly vyrobeny analogy sýrů eidamského typu, standardním technologickým postupem pro výrobu tohoto typu sýra, s přidavkem ořechového, konkrétně lískořechového, oleje. Zároveň byl, pro porovnání, stejným postupem vyroben sýr bez přidavku oleje.

Pro výrobu bylo použito chymozinové syřidlo a klasická mezofilní aromatická kultura o složení *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*. Povrch vyrobených vzorků byl ošetřen ochranným nátěrem na sýry (Plasticoat) a sýry byly ponechány zrát v klimatizovaném zracím boxu (12 °C, 85% vlhkost) po dobu dvou měsíců, což je v Česku obvyklá doba zrání těchto typů sýrů.

Ochranný nátěr sýrů během zrání minimalizuje ztráty vysušením, čímž by se mělo dosáhnout lepších sensorických vlastností sýrů. Navíc zajišťuje vynikající bariérové vlastnosti proti růstu plísní, zlepšení vzhledu sýra a lepší ochranu proti mechanickému poškození.



Obrázek 11: Nakrájená syřenina.



Obrázek 12: Sýrové zrno.



Obrázek 13: Zformovaná sýřenina.

Vyrobené produkty byly hodnoceny z hlediska senzorické kvality, se zaměřením především na chutnost (flavour) a s ní související obsah aromatických látek. Pozornost je samozřejmě věnována lipidům a MK jako důležitým prekursorům aromatických látek v sýrech. Pro zajímavost byla sledována struktura pomocí elektronového mikroskopu. Cílem bylo zjistit, zda má přídavek oleje vliv (pozitivní/negativní) na sledované parametry.

4.1.1 Tukové charakteristiky použitého lískoořechového oleje

Jak již bylo zmíněno, pro výrobu modelových analogů byl použitý lískoořechový olej zakoupený v běžné tržní síti. Vzhledem k tomu, že se jedná o důležitou, respektive základní surovinu pro výrobu daných vzorků, ještě před samotnou výrobou sýrového analogu bylo pro jednoduché orientační posouzení jeho kvality provedeno ověření tukových charakteristik. Nekvalitní olej by mohl do analogů vnést nežádoucí pachuti apod.

Přehled naměřených hodnot tukových charakteristik je uveden v Tabulce 8.

Tabulka 8: Tukové charakteristiky lískoořechového oleje.

Tukové charakteristiky	
Číslo kyselosti ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	$0,83 \pm 0,04$
Číslo zmýdelnění ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	$207,28 \pm 0,21$
Esterové číslo ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	$206,45 \pm 0,18$
Peroxidové číslo ($\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$6,46 \pm 0,08$
Jodové číslo ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$)	$96,97 \pm 0,14$

Podle CCFO [32] by se ČZ lískoořechového oleje mělo pohybovat v rozmezí 188–198 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, a JČ v rozmezí 81–95 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Naměřené hodnoty jsou mírně vyšší (Tabulka 8).

Nejdůležitější pro účely této práce jsou hodnoty ČK a PČ, které určují čerstvost použitého oleje. Vyhláška MZe 90/2000 Sb. [51], která specifikuje požadavky na rostlinné jedlé tuky a oleje, uvádí maximální hodnotu ČK 0,6 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ pro rafinované a 4 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ pro za studena lisované oleje.

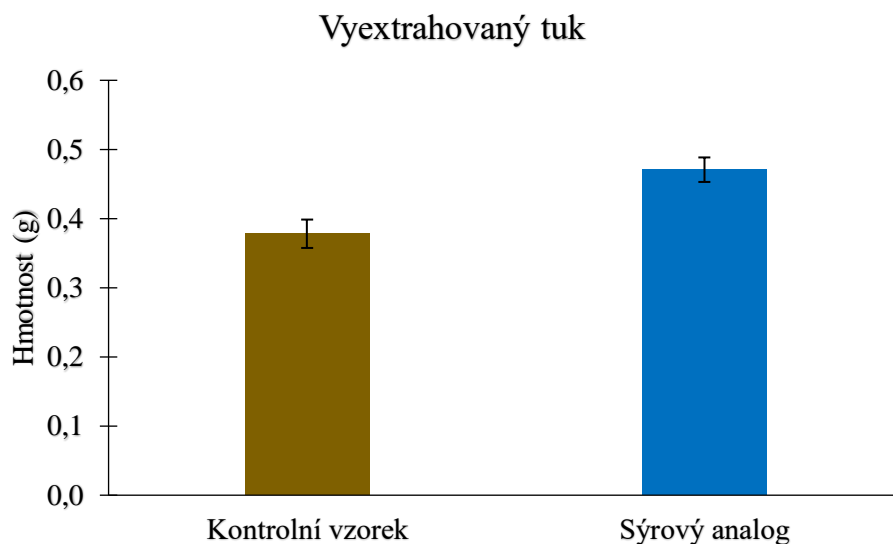
CCFO uvádí hodnoty peroxidového čísla do 5 $\text{meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ pro rafinované a do 20 $\text{meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ pro za studena lisované olivové oleje [32]. Dle vyhlášky MZe 90/2000 Sb. [51] jsou hodnoty peroxidového čísla pro všechny rostlinné oleje a tuky a jejich směsi do 10 $\text{meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ pro rafinované a do 15 $\text{meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ pro za studena lisované. Námi naměřená hodnota odpovídá přibližně 13 $\text{meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$.

Použitý olej je deklarován jako za studena lisovaný, jak je vidět z Tabulky 8, odpovídá požadavkům legislativy, tzn. lze jej považovat za čerstvý.

Jak již bylo dříve zmíněno, lískoořechový olej má řadu pozitivních vlastností. Zejména se jedná o mastné kyseliny řady ω -3 a ω -6, které přispívají k udržení správné hladiny cholesterolu v krvi. Dále obsahuje významné množství tokoferolů, tokotrienolů a sterolů. V neposlední řadě má olej příjemnou ořechovou vůni i chuť, a hodí se tak do studené, v některých případech i do teplé kuchyně. Jeho přídavkem do sýrového analogu lze očekávat nejen zvýšení obsahu prospěšných mastných kyselin, ale také příjemnou vůni a chuť.

4.2 Obsah sušiny a tuku v sušině ve vzorcích

Extrakcí směsí diethylether/petrolether bylo stanoveno množství tuku v modelových vzorcích. Z Grafu 1 je patrné, že v sýrovém analogu byla průměrná hmotnost vyextrahovaného tuku přibližně o desetinu gramu vyšší než v kontrolním vzorku, což odpovídá přidanému ořechovému oleji.



Graf 1: Srovnání množství vyextrahovaného tuku z modelových vzorků.

Rozhodčí metodou [52] byla stanovena sušina kontrolního vzorku na $68,16 \pm 0,57$ % a sýrového analogu na $76,13 \pm 0,20$ %.

Eidamské sýry se řadí do kategorie sýrů polotvrdých [53], obsah sušiny se pohybuje okolo 50–55 %. Z uvedených výsledků je jasné, že modelové vzorky měly velmi vysoký obsah sušiny (> 65 %, analog dokonce > 75 %), čemuž odpovídala poměrně tvrdá konzistence (viz dále podkap. 4.5).

Nižší obsah vody vede k mírnější proteolýze a lipolýze během zrání sýrů, díky tomu bylo ve vzorcích identifikováno poměrně málo těkavých látek (viz dále podkap. 4.2) a jejich chuť nebyla hodnocena příliš dobře (viz dále podkap. 4.5).

Z množství vyextrahovaného tuku a navážky vzorku bylo spočítáno množství tuku v kontrolním vzorku na $36,77 \pm 1,96$ % a v sýrovém analogu na $46,52 \pm 1,48$ %. Množství tuku v modelových vzorcích bylo pomocí zjištěné sušiny přepočítáno na množství tuku v sušině, které činilo pro kontrolní vzorek 53,95 % a pro sýrový analog 61,10 %.

Obsah tuku v sušině eidamských sýrů bývá 40 % nebo 45 %. Vyrobené vzorky tedy měly i velmi vysoký obsah tuku (> 50 % t. v s., analog dokonce > 60 % t. v s.), což také ovlivňuje konzistenci sýrů, mělo by dojít k jejímu zjemnění.

4.3 Těkavé (aromatické) látky v modelových vzorcích sýrů/analogů

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS (viz podkap. 2.7.1.1). Identifikace byla provedena na základě srovnání hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter.

V kontrolním vzorku i v sýrovém analogu byla identifikována pestrá paleta aromaticky aktivních látek. Jednalo se o směs kyselin, ketonů a alkoholů, které byly doprovázeny estery,

aldehydy, sirnými sloučeninami a dalšími látkami. Přehled identifikovaných sloučenin ve vzorcích je uveden v Tabulce 9.

Tabulka 9: Identifikované těkavé látky ve vyrobených vzorcích.

Název sloučeniny	Retenční čas (min)	Skupina	Kontrolní vzorek	Sýrový analog	Reference
ethanol	4,66	alkohol	+	+	[16]
butan-2,3-dion	5,80	keton	+	+	[14,16]
ethylbutyrát	7,38	ester	+	+	[16]
hexanal	8,99	aldehyd		+	[14,16,33,34]
heptan-4-on	10,63	keton	+	+	
butan-1-ol	11,47	alkohol	+	+	[14,16]
heptan-2-on	13,08	keton	+	+	[14,16]
limonen	13,56	ostatní	+	+	[16]
3-methylbutan-1-ol	14,16	alkohol		+	[14]
butylbutyrát	14,58	ester		+	
ethylhexanoát	15,29	ester	+	+	[14,16]
pentan-1-ol	16,08	alkohol	+	+	
acetoin	17,80	keton	+	+	[14,16]
2-hydroxyethylpropanoát	20,41	ester	+	+	
hexan-1-ol	20,74	alkohol	+	+	[33,34]
nonanal	22,58	aldehyd	+	+	[14,16,34]
ethyloktanoát	24,32	ester	+	+	[14,16]
kyselina octová	25,63	kyselina	+	+	[16,33,34]
2-ethylhexanol	26,91	alkohol	+	+	
butan-2,3-diol	29,92	alkohol	+	+	[14,33]
kyselina propionová	30,49	kyselina	+	+	[16,34]
butan-2,3-diol	32,49	alkohol	+	+	[14,33]
kyselina máselná	36,69	kyselina	+	+	[16]
methoxyfenyloxim	45,71	ostatní	+	+	
kyselina pentanová	44,75	kyselina		+	[16]
alfa-isomethylionon	49,18	keton	+	+	
geraniol	49,44	alkohol	+	+	
kyselina hexanová	50,12	kyselina	+	+	[14,16]
benzylalkohol	50,88	alkohol	+	+	
dimethylsulfon	52,11	sírná sloučenina	+	+	
2-fenylethylalkohol	52,35	alkohol	+	+	[14]
dodekanol	54,54	alkohol	+	+	
4-methoxybenzaldehyd	57,10	aldehyd	+	+	
kyselina oktanová	58,77	kyselina	+	+	[14,16]

Celkem bylo v kontrolním vzorku identifikováno 30 těkavých sloučenin, z toho 11 alkoholů, 5 ketonů, 5 kyselin, 4 estery, 2 aldehydy, 1 sírná sloučenina a 2 látky zařazené do skupiny „ostatní“. V analogu bylo celkem identifikováno 34 těkavých sloučenin, z toho 12 alkoholů,

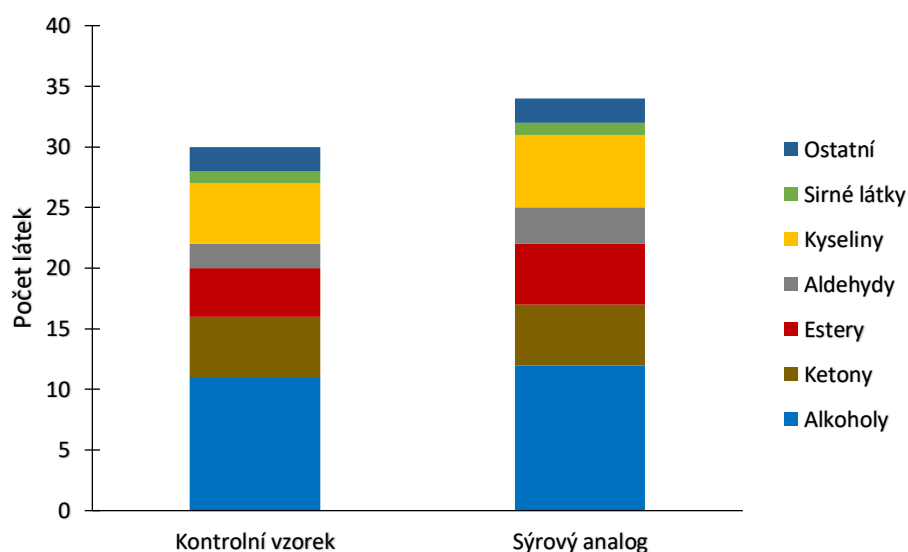
6 kyselin, 5 ketonů, 5 esterů, 3 aldehydy, 1 sirná sloučenina a 2 látky zařazené do skupiny „ostatní“. Ukázky chromatogramů jsou uvedeny v Příloze 2 a 3.

Butan-2,3-diol je uveden dvakrát, protože došlo k identifikaci obou izomerů.

Všechny aromatické látky, které se běžně nachází v sýru typu gouda (podkap. 2.4), lze očekávat i ve vyrobených vzorcích, což naznačuje i počet referencí v Tabulce 9.

4.3.1 Srovnání počtu identifikovaných látek ve vzorcích

Srovnání celkového počtu identifikovaných sloučenin ve vzorcích rozdělených podle chemických skupin je uvedeno v Grafu 2, podrobnější přehled v Tabulce 10.



Graf 2: Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích.

Tabulka 10: Celkový počet těkavých látek podle chemických skupin v modelových vzorcích.

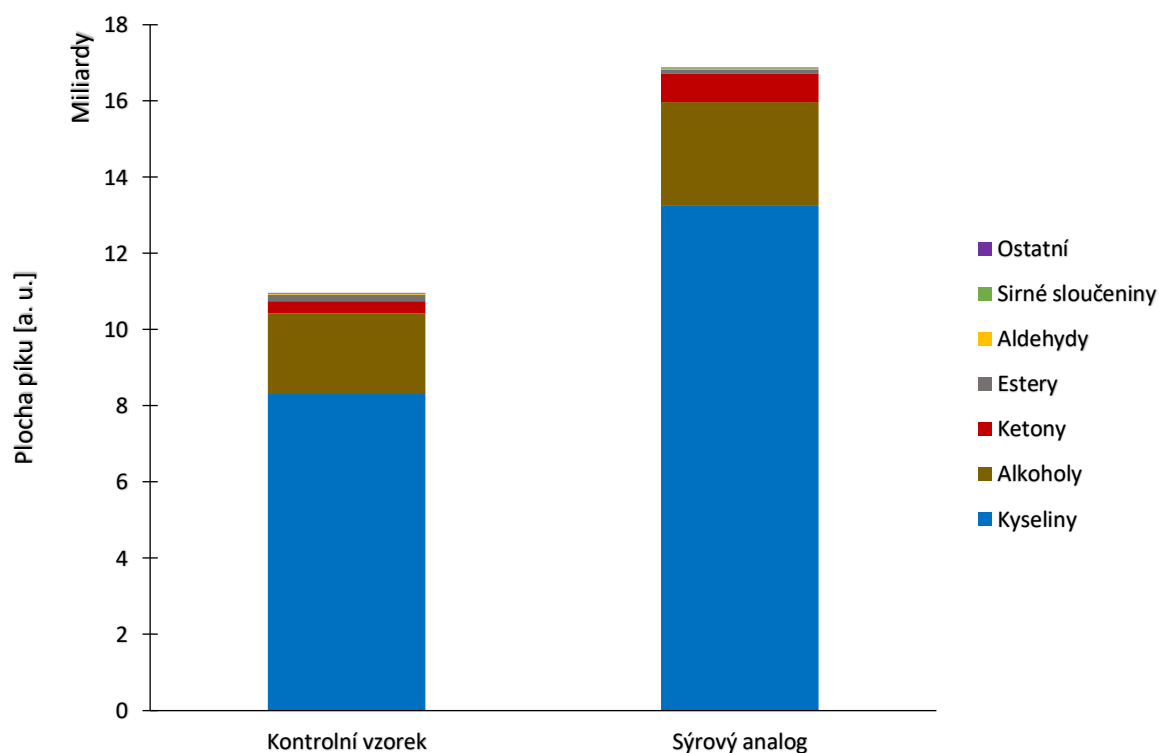
	Kontrolní vzorek	Sýrový analog
Alkoholy	11	12
Ketony	5	5
Estery	4	5
Aldehydy	2	3
Kyseliny	5	6
Sirné látky	1	1
Ostatní	2	2
Celkem	30	34

Z Tabulky 10 je patrné, že v sýrovém analogu bylo identifikováno více aromaticky aktivních látek, konkrétně 34, naproti tomu v kontrolním vzorku bylo identifikováno 30 aromaticky aktivních látek. Nicméně z Grafu 1 je dobře patrné, že zastoupení jednotlivých chemických skupin je podobné. Jedná se o identické látky v obou vzorcích, nicméně v sýrovém analogu byly navíc identifikovány látky 3-methylbutan-1-ol, butylbutyrát, hexanal a kyselina

pentanová. Kromě hexanalů jsou tyto látky, které byly navíc identifikované v sýrovém analogu, dle referencí typické spíše pro mléko. Hexanal je zodpovědný za tzv. zelené aroma či travnatou vůni a je hojně zastoupen v lískoořechovém oleji, ale dle referencí je možné jej nalézt i v kravském mléce. Dle Van Leuven a kol. [14] je přítomnost hexanalů typická zejména pro sýry z čerstvého mléka. Jelikož bylo v našem případě mléko šetrně pasterováno, můžeme s vysokou pravděpodobností přisoudit přítomnost hexanalů výhradně lískoořechovému oleji. Přítomnost butylbutyrátu není podpořena žádnou referencí a jeho identifikace pouze v sýrovém analogu by mohla ukazovat na původ v lískoořechovém oleji.

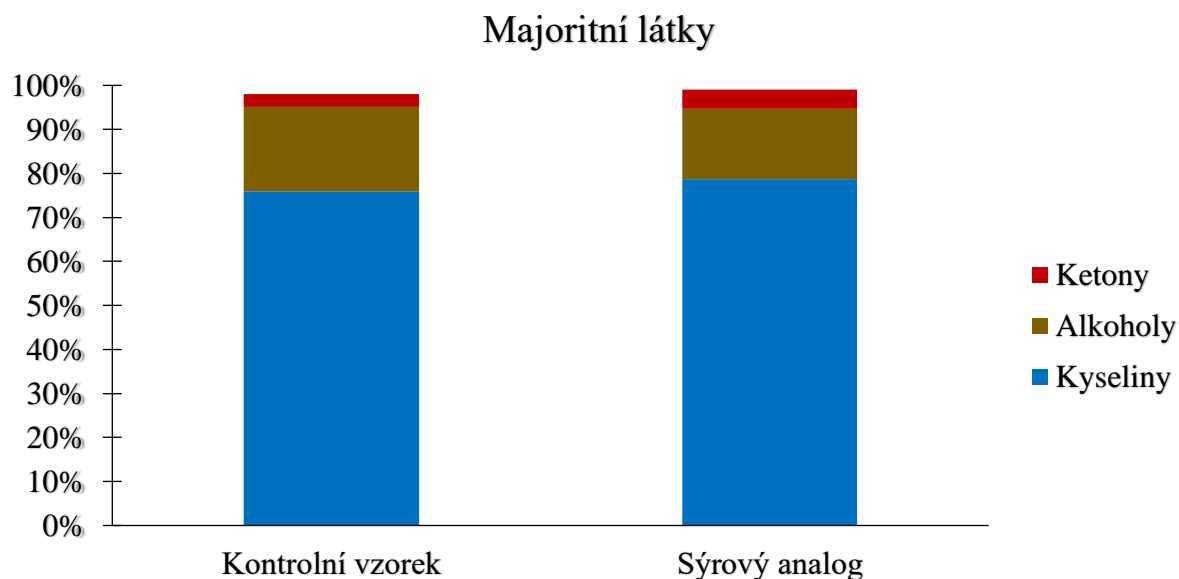
4.3.2 Srovnání obsahu identifikovaných látek ve vzorcích

Obsah identifikovaných sloučenin je vyjádřen semikvantitativně za použití ploch příslušných píků na chromatogramu. V Grafech 1–3 je uvedeno srovnání obsahu identifikovaných sloučenin ve vzorcích, opět rozdělené podle chemických skupin. Výsledky jsou vyjádřeny jednak srovnáním ploch píků (Graf 3) a jako „relativní obsah“, tj. % z celkové plochy všech píků na chromatogramu (Grafy 4 a 5).

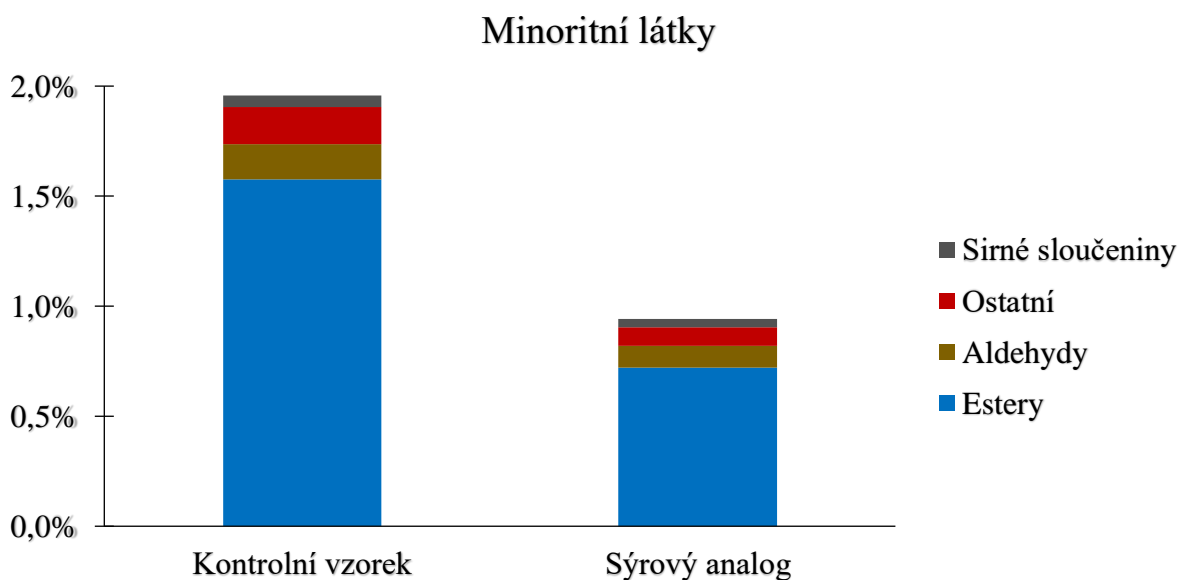


Graf 3: Celkové množství identifikovaných aromaticky aktivních látek

Z Grafu 3 je patrné, že v sýrovém analogu se nacházelo přibližně o polovinu více těkavých látek než v kontrolním vzorku. Procentuální zastoupení jednotlivých skupin pak vyjadřují následující dva grafy (Graf 4 a 5).



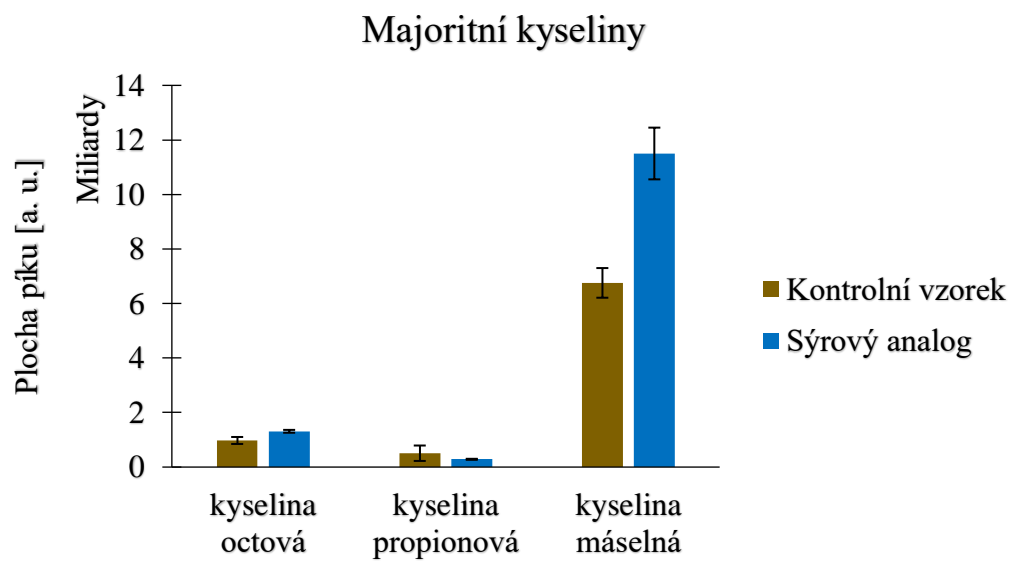
Graf 4: Procentuální zastoupení identifikovaných majoritních skupin látek.



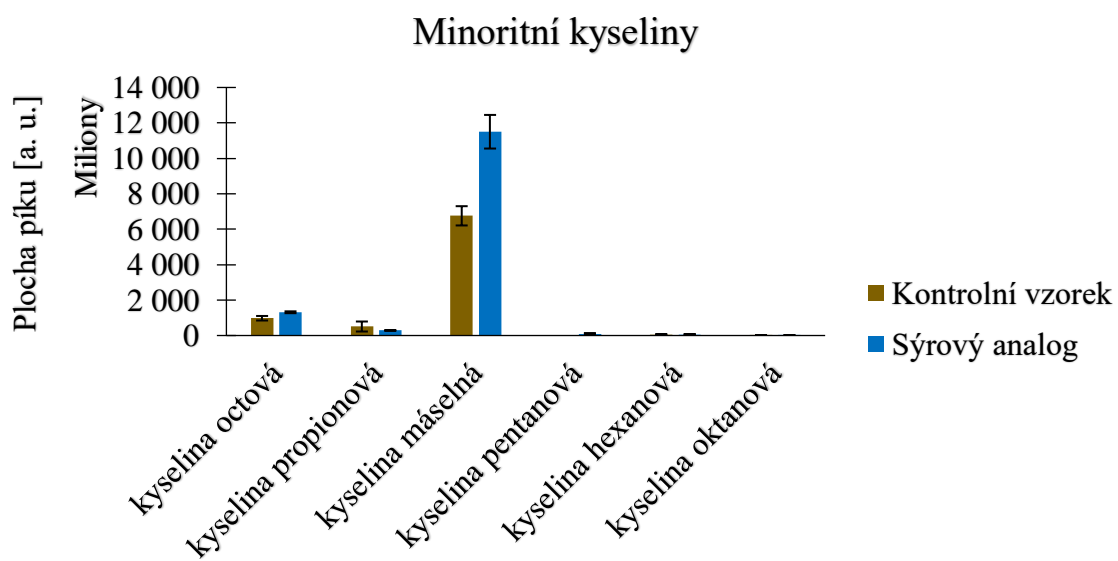
Graf 5: Procentuální zastoupení identifikovaných minoritních skupin látek.

Z celkového množství měly největší zastoupení kyseliny, v kontrolním vzorku cca 76 %, v sýrovém analogu cca 79 %. Dále měly významné zastoupení alkoholy, v kontrolním vzorku přibližně 19 % a v sýrovém analogu přibližně 16 %. Poslední hlavní komponentou byly ketony, které v kontrolním vzorku zabíraly asi 3 % a v sýrovém analogu asi 4 %. Zbýlá dvě procenta v kontrolním vzorku tvořila směs esterů, aldehydů, sírných sloučenin a ostatních látek. V sýrovém analogu tato směs tvořila zbylé jedno procento.

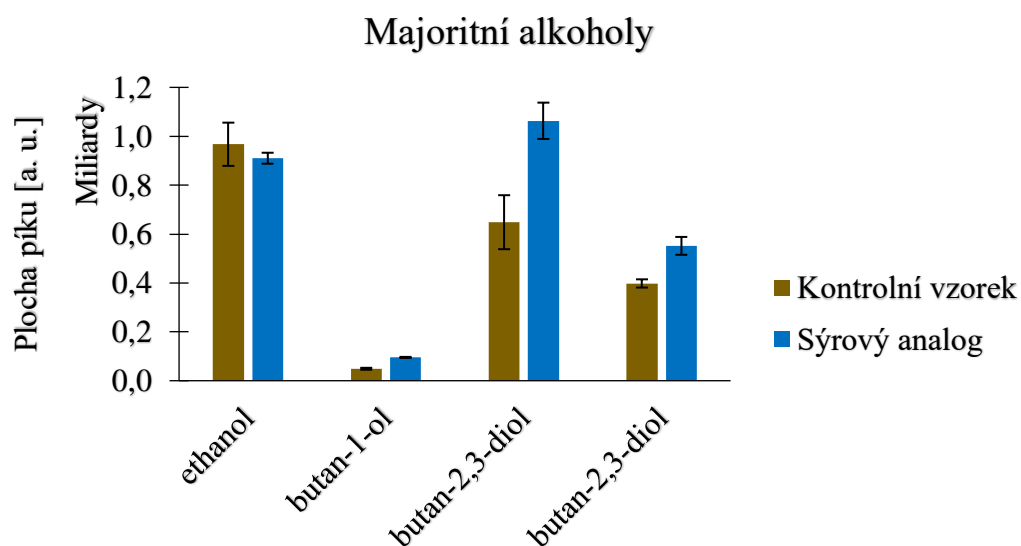
V následujících grafech je pro přehlednost znázorněno zastoupení jednotlivých sloučenin (Graf 6 až 16), opět rozdělené podle chemických skupin.



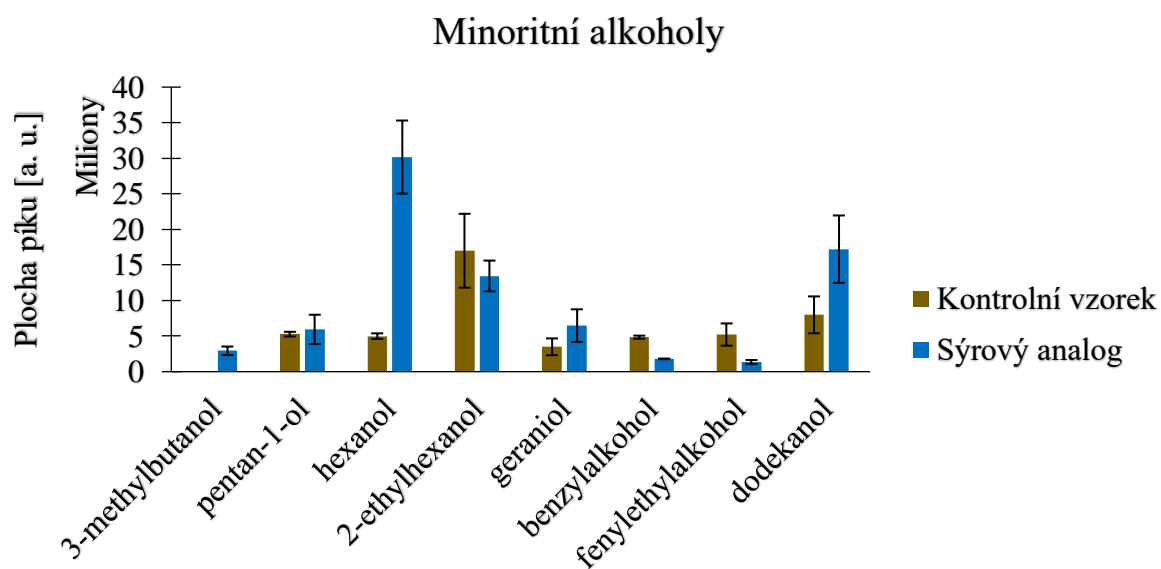
Graf 6: Zastoupení hlavních kyselin.



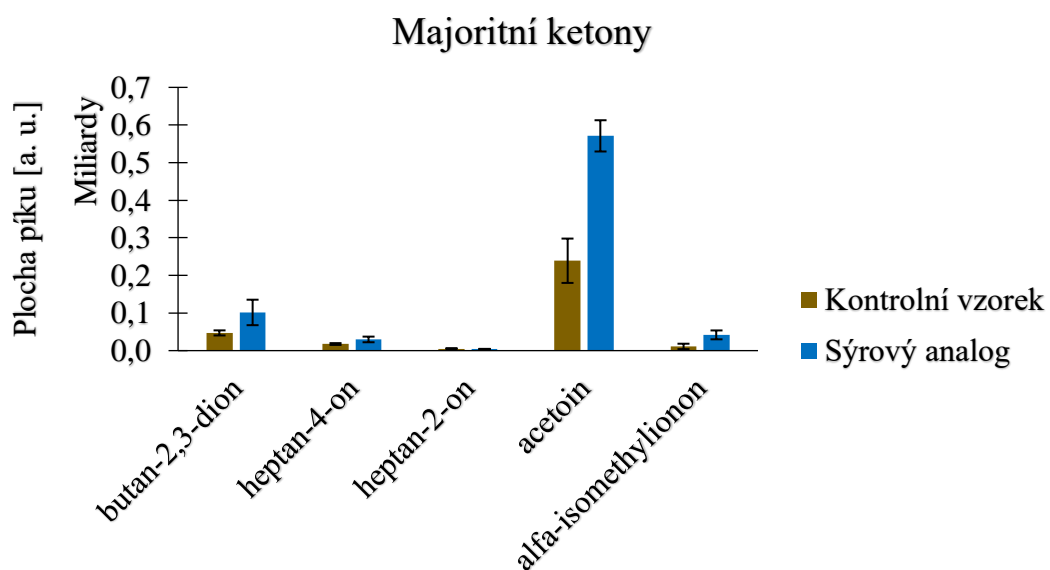
Graf 7: Zastoupení minoritních kyselin.



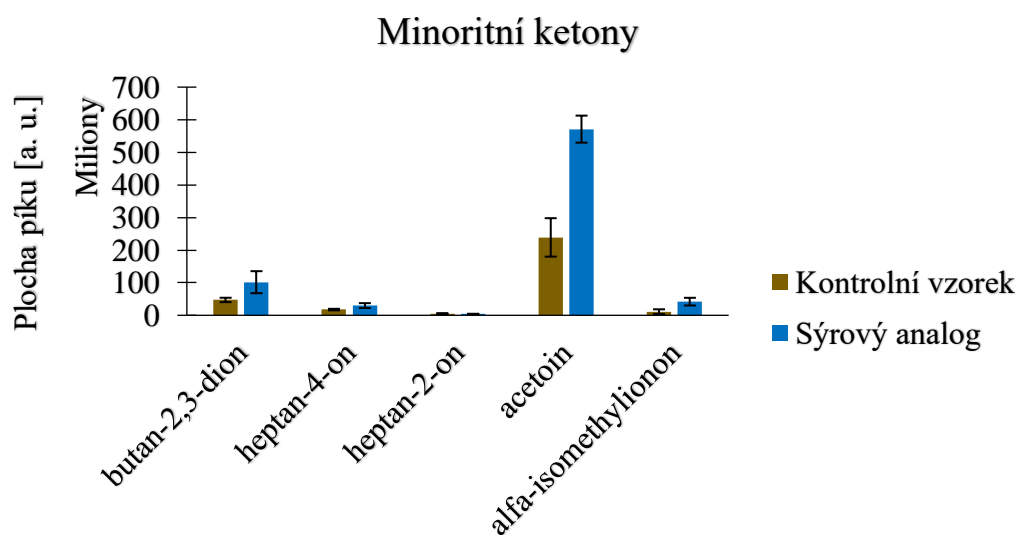
Graf 8: Zastoupení majoritních alkoholů.



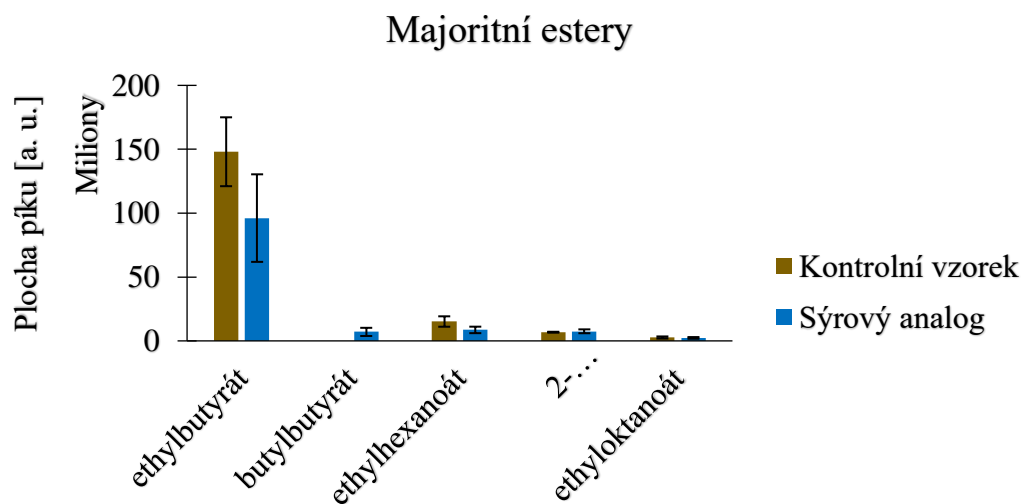
Graf 9: Zastoupení minoritních alkoholů.



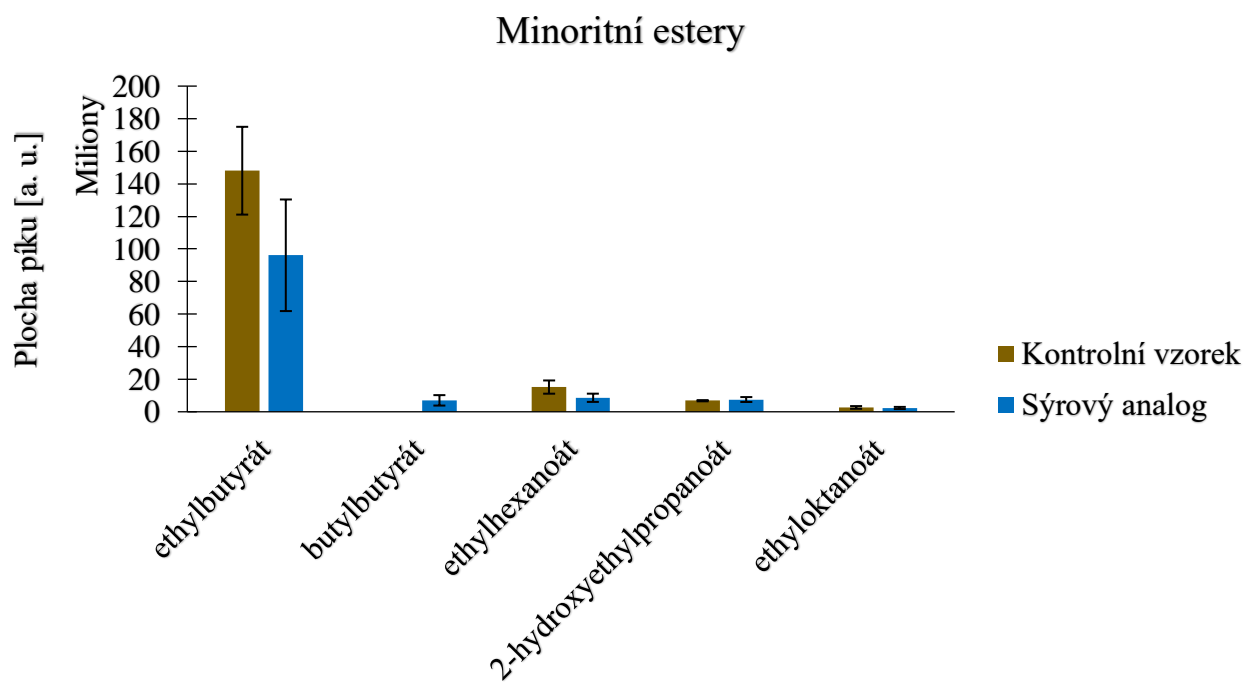
Graf 10: Zastoupení hlavních ketonů.



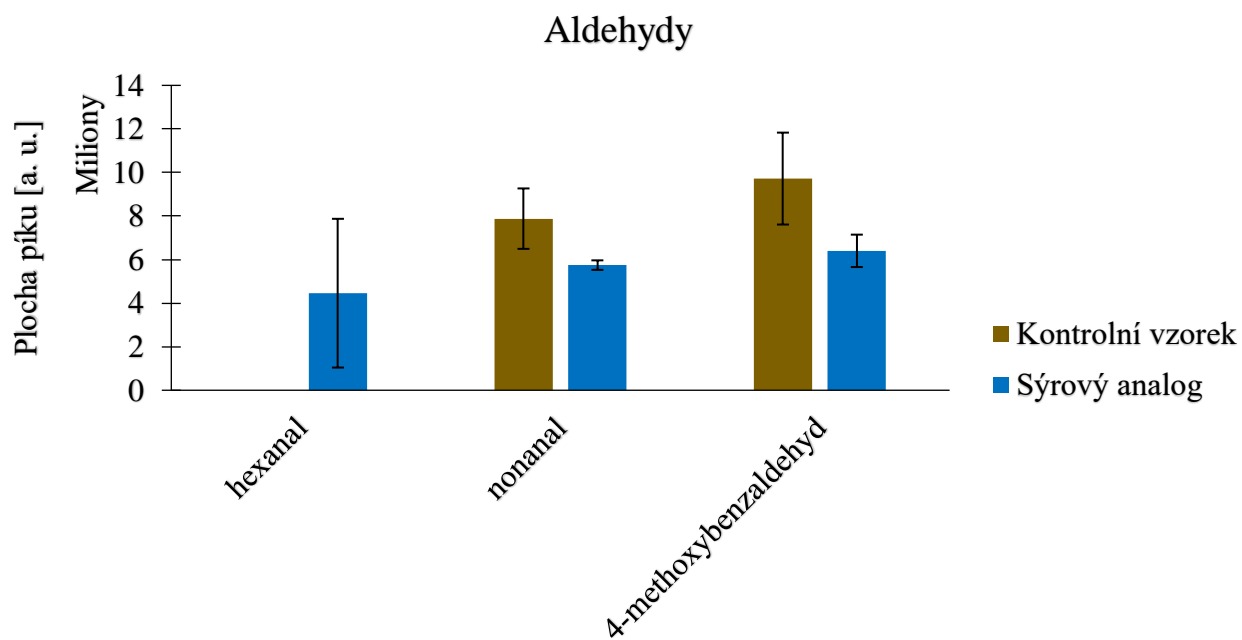
Graf 11: Zastoupení minoritních ketonů.



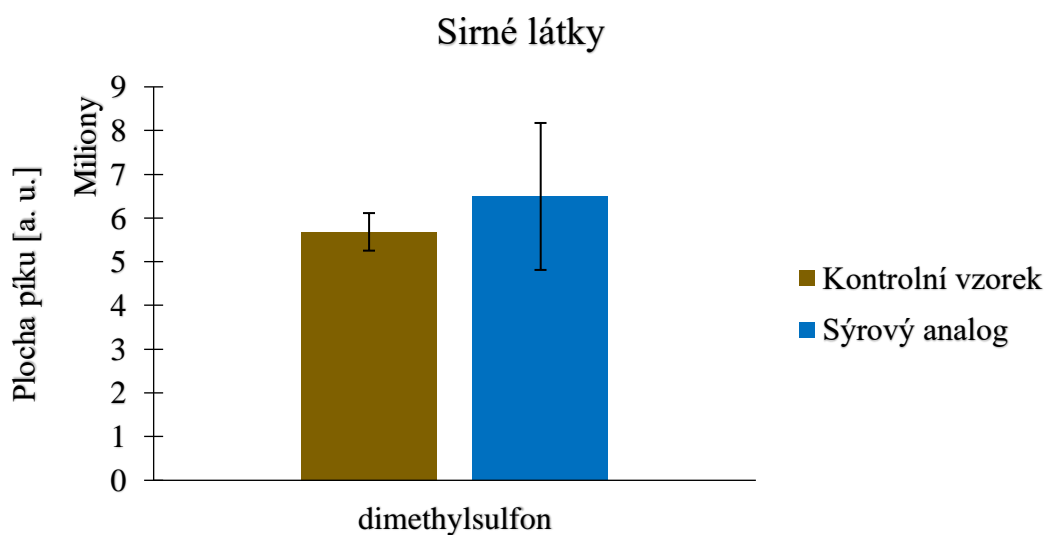
Graf 12: Množství ethylbutyrátu v modelových vzorcích.



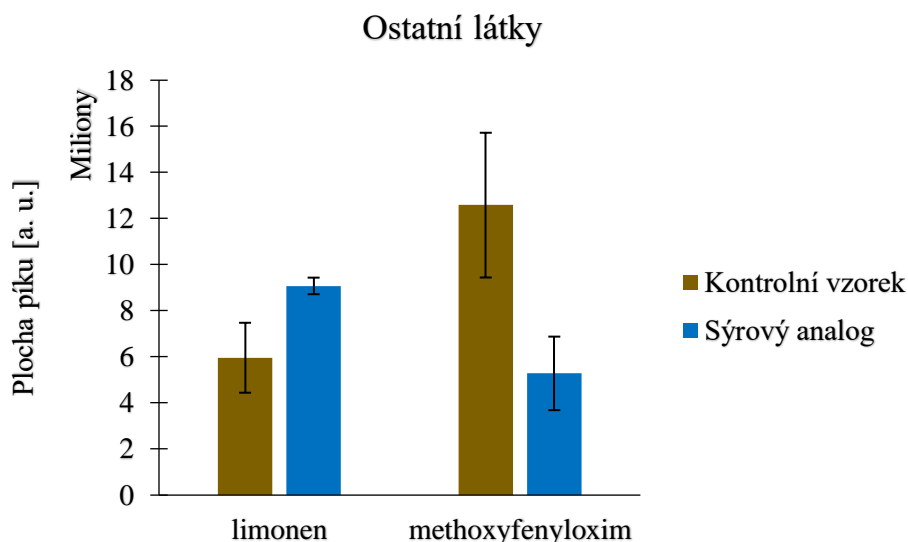
Graf 13: Množství ostatních méně zastoupených esterů.



Graf 14: Zastoupení jednotlivých aldehydů v modelových vzorcích.



Graf 15: Množství dimethylsulfonu v modelových vzorcích.



Graf 16: Zastoupení ostatních látek v modelových vzorcích.

Největší zastoupení vůbec měla kyselina máselná následovaná kyselinou octovou, ethanolem a butan-2,3-diolem. Z ketonů tvořily značnou část acetoin a biacetyl (butan-2,3-dion). Největší zastoupení z esterů měl ethylbutyrát. Ostatní sloučeniny byly zastoupeny v menším množství. Z aldehydů stojí za zmínku hexanal, který je zodpovědný za tzv. zelené aroma a byl identifikovaný pouze v sýrovém analogu. Jedinou sirnou sloučeninou, která byla identifikována, je dimethylsulfon. Z ostatních látek to pak byl methoxyfenyloxim a limonen.

4.4 Volné a vázané mastné kyseliny v modelových vzorcích sýrů/analogů

Pro stanovení volných a vázaných MK byla aplikována izolace lipidů ze vzorku směsí rozpouštědel (diethylether, petrolether), následná esterifikace MK za použití bortrifluoridu jako katalyzátoru a konečná analýza GC-FID (viz podkap. 3.3.2).

MK byly identifikovány na základě srovnání retenčních časů MEMK s příslušnými standardy. Kvantifikace byla provedena srovnáním ploch píků se standardy o známé koncentraci (viz podkap. 3.3.2.4).

4.4.1 Přehled identifikovaných mastných kyselin ve vzorcích

Ve vzorcích bylo celkem identifikováno 27 volných a 29 vázaných MK. V Tabulkách 11 a 12 je uveden komplexní přehled identifikovaných MK, ukázky chromatogramů jsou uvedeny v Přílohách 4 až 7.

Stejně jako v případě těkavých látek, ve vyrobených sýrových analogích je možné očekávat již dříve zmíněné volné i vázané MK typické pro eidamské sýry (viz podkap. 2.5). V článcích [18–20] se z hlediska VMK autoři zabývají výhradně těmi s kratším řetězcem a sudým počtem uhlíků (nutno podotknout, že se jedná o články týkající se mléka, a ne lískových ořechů). Ve vzorcích byly identifikovány i ostatní VMK (viz Tabulka 11). Pokud jde o vázané MK, referencí je více zejména u MK se středně dlouhým, dokonce i s dlouhým řetězcem (C18–C20). Všechny MK, které jsou uvedeny v referencích byly identifikovány i v modelových vzorcích. Důraz je kladen zejména na řadu C18.

Zároveň lze předpokládat i přítomnost některých dalších MK z ořechového oleje (viz podkap. 2.6.2). Tento předpoklad se však nepotvrdil, v analogu bylo detekováno překvapivě méně MK než v kontrolním vzorku. Je možné, že se zde mohly nacházet některé MK, které nebylo možné pomocí použité metody identifikovat (nebyly k dispozici odpovídající standardy).

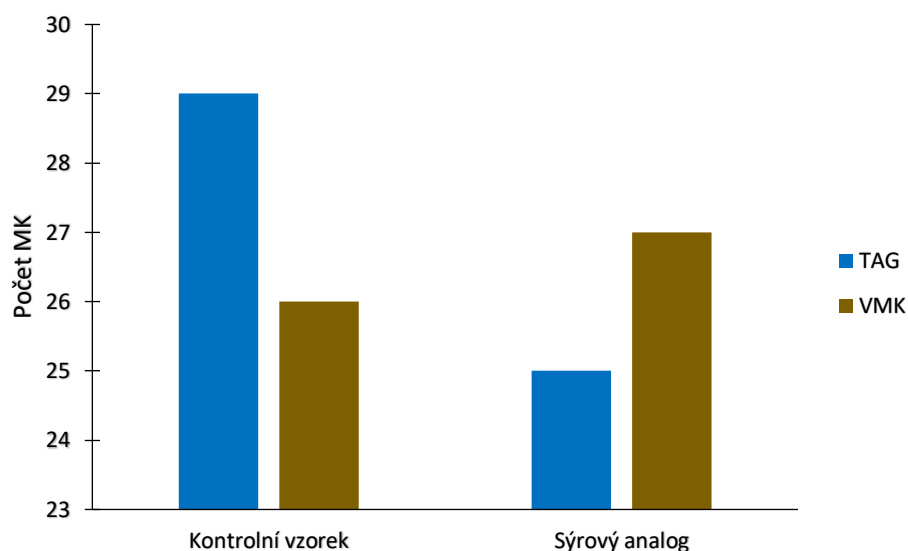
Tabulka 11: Přehled identifikovaných VMK v modelových vzorcích.

Zkrácený zápis MK	Retenční čas (min)	VMK		
		Kontrolní vzorek	Sýrový analog	Reference
C4:0	4,41	+	+	[18,19,20]
C6:0	5,63	+	+	[18,19,20]
C8:0	6,76	+	+	[18,19,20]
C10:0	7,91	+	+	[18,19,20]
C11:0	8,49	+	+	
C12:0	9,24	+	+	[18,19,20]
C13:0	9,99	+	+	
C14:0	11,02	+	+	[18,19,20]
C14:1	11,44	+	+	
C15:0	12,15	+	+	
C15:1	12,72	+	+	
C16:0	13,52	+	+	[18,19,20]
C16:1	13,91	+	+	
C17:0	14,91	+	+	
C17:1	15,33	+	+	
C18:0	16,76	+	+	[18,19,20]
C18:1cis	17,17	+	+	[18,19,20]
C18:2cis	18,06	+	+	[18,20]
C18:3n6	18,60	+	+	[18,20]
C18:3n3	19,36	+	+	[18,20]
C20:0	21,01	+	+	
C20:1	22,17	+	+	
C21:0	24,09	+	+	
C20:3n6	24,94	+	+	
C22:0	27,42	+	+	
C22:1	30,57	+	+	
C22:2	32,62		+	

Tabulka 12: Přehled identifikovaných TAG v modelových vzorcích.

Zkrácený zápis MK	Retenční čas (min)	TAG		
		Kontrolní vzorek	Sýrový analog	Reference
C4:0	4,38	+	+	[12]
C6:0	5,62	+	+	[12]
C8:0	6,75	+	+	[12]
C10:0	7,90	+	+	[12]
C11:0	8,54	+	+	[12]
C12:0	9,24	+	+	[12]
C13:0	10,09	+	+	[12]
C14:0	11,03	+	+	[12,32,34]
C14:1	11,44	+	+	
C15:0	12,15	+	+	[12]
C15:1	12,70	+	+	
C16:0	13,54	+	+	[12,21,32,33,34]
C16:1	13,92	+	+	[21,32,34]
C17:0	15,06	+	+	[12,32]
C17:1	15,43	+	+	[32]
C18:0	16,76	+	+	[12,21,32,33]
C18:1cis	17,18	+	+	[21,32,33,34]
C18:2cis	18,06	+	+	[11,21,32,33,34]
C18:3n6	18,65	+	+	[11,21,32,33,34]
C18:3n3	19,70	+	+	[11,21,32,33,34]
C20:0	20,57	+	+	[12,32,34]
C20:1	21,48	+	+	[12,32,34]
C20:2	23,53	+		
C21:0	24,48	+		
C20:3n6	25,31	+	+	[11,34]
C20:4	26,03	+		[11]
C22:0	27,87	+		[12,32]
C22:1	30,85	+	+	[32]
C22:2	32,73	+	+	

Srovnání počtu identifikovaných MK ve vzorcích je uvedeno v Grafu 17. V kontrolním vzorku bylo identifikováno 29 vázaných MK (TAG) a 26 VMK. V sýrovém analogu bylo TAG 25 a VMK 27 (viz Graf 17).



Graf 17: Srovnání počtu identifikovaných VMK a TAG v modelových vzorcích, a jejich celkový počet.

4.4.2 Srovnání obsahu vázaných mastných kyselin ve vzorcích

Obsah vázaných mastných kyselin byl vyjádřen jako jejich hmotnost vztažená na množství vyextrahovaného tuku v $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Tabulka 13: Přehled obsahu jednotlivých MK v modelových vzorcích v $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ tuku.

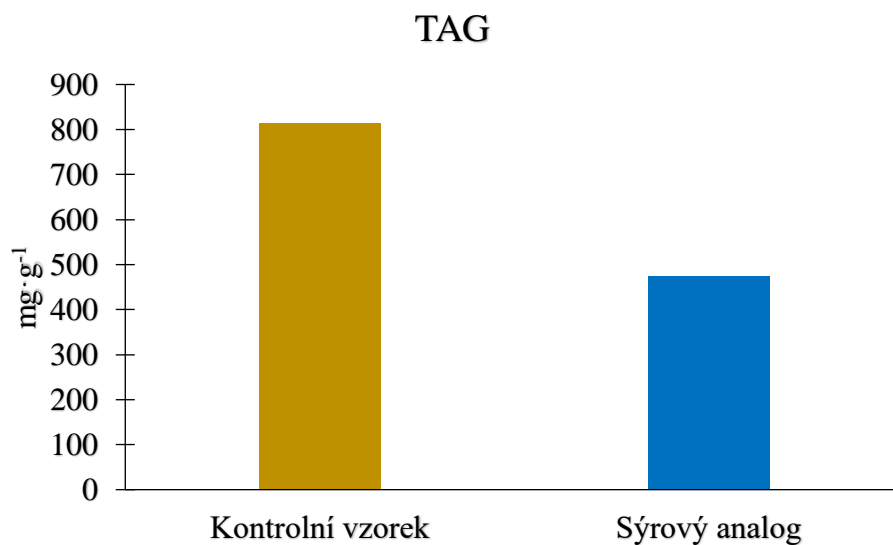
$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \pm \text{SD}$	TAG		VMK	
Zkrácený zápis MK	Kontrolní vzorek	Sýrový analog	Kontrolní vzorek	Sýrový analog
C4:0	$8,38 \pm 1,02$	$6,15 \pm 0,08$	$0,82 \pm 0,34$	$0,76 \pm 0,01$
C6:0	$12,69 \pm 1,69$	$10,58 \pm 4,25$	$0,66 \pm 0,17$	$0,64 \pm 0,06$
C8:0	$8,44 \pm 0,89$	$6,30 \pm 2,67$	$0,39 \pm 0,08$	$0,38 \pm 0,05$
C10:0	$19,85 \pm 2,69$	$15,97 \pm 6,97$	$0,94 \pm 0,17$	$0,89 \pm 0,10$
C11:0	$0,56 \pm 0,22$	$0,37 \pm 0,10$	$0,02 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,00$
C12:0	$22,80 \pm 2,63$	$17,90 \pm 7,92$	$1,04 \pm 0,20$	$1,01 \pm 0,10$
C13:0	$0,79 \pm 0,25$	$0,56 \pm 0,16$	$0,03 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$
C14:0	$59,76 \pm 6,08$	$44,57 \pm 18,71$	$2,44 \pm 0,46$	$2,39 \pm 0,19$
C14:1	$4,34 \pm 0,46$	$3,16 \pm 1,47$	$0,19 \pm 0,03$	$0,19 \pm 0,01$
C15:0	$6,09 \pm 0,65$	$4,44 \pm 1,74$	$0,27 \pm 0,04$	$0,27 \pm 0,02$
C15:1	$0,53 \pm 0,06$	$0,83 \pm 0,26$	$0,03 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,00$
C16:0	$101,77 \pm 11,26$	$75,54 \pm 26,68$	$4,39 \pm 0,53$	$4,67 \pm 0,29$
C16:1	$6,73 \pm 0,45$	$4,93 \pm 1,87$	$0,36 \pm 0,06$	$0,36 \pm 0,05$
C17:0	$1,02 \pm 0,05$	$1,07 \pm 0,32$	$0,04 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$
C17:1	$1,10 \pm 0,22$	$0,68 \pm 0,20$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,00$
C18:0	$12,55 \pm 1,52$	$9,03 \pm 2,64$	$0,52 \pm 0,03$	$0,58 \pm 0,05$
C18:1cis	$20,16 \pm 2,21$	$26,88 \pm 8,48$	$0,81 \pm 0,13$	$1,50 \pm 0,06$
C18:2 cis	$2,21 \pm 0,08$	$2,99 \pm 1,02$	$0,12 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,02$
C18:3n6	$0,17 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,05$	$0,01 \pm 0,00$	$0,01 \pm 0,00$

Tabulka 13: Přehled obsahu jednotlivých MK v modelových vzorcích v $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku, pokračování.

$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \pm \text{SD}$	TAG		VMK	
Zkrácený zápis MK	Kontrolní vzorek	Sýrový analog	Kontrolní vzorek	Sýrový analog
C18:3n3	$0,59 \pm 0,10$	$0,68 \pm 0,17$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$
C20:0	$0,01 \pm 0,00$	$0,48 \pm 0,14$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
C20:1	$0,06 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,11$	$0,01 \pm 0,00$	$0,01 \pm 0,00$
C20:2	$0,04 \pm 0,01$	ND	ND	ND
C21:0	$0,04 \pm 0,01$	ND	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
C20:3n6	$0,16 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,05$	$0,01 \pm 0,00$	$0,01 \pm 0,00$
C20:4	$0,00 \pm 0,00$	ND	ND	ND
C22:0	$0,06 \pm 0,00$	ND	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,00$
C22:1	$0,11 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,05$	$0,03 \pm 0,00$
C22:2	$0,02 \pm 0,00$	$1,89 \pm 0,11$	ND	$0,05 \pm 0,01$

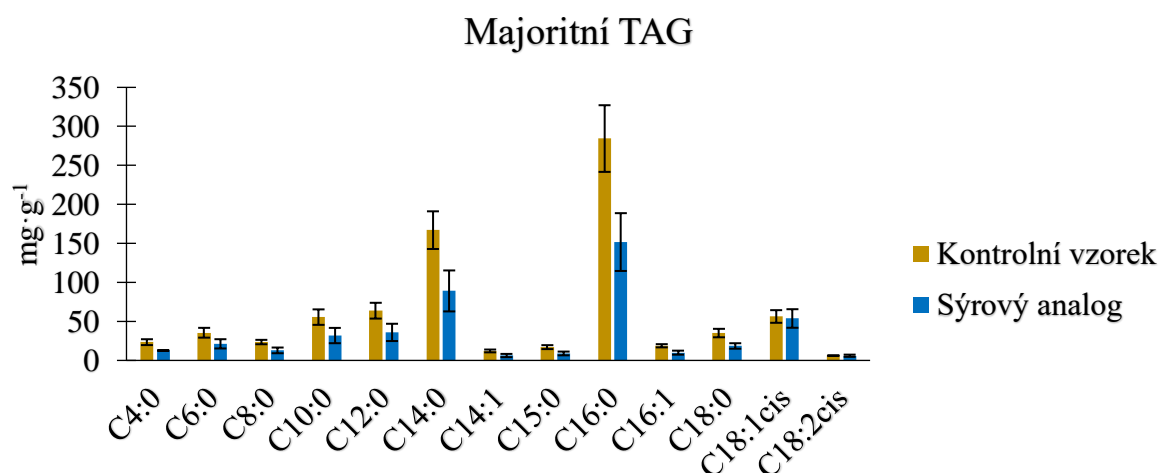
MK – mastná kyselina, TAG – vázané MK, VMK – volné MK, ND – Nebylo detekováno, SD – směrodatná odchylka

Přehled všech identifikovaných volných/vázaných MK je uveden v Tabulce 13, v Grafu 18 je uvedeno srovnání celkového obsahu vázaných MK.

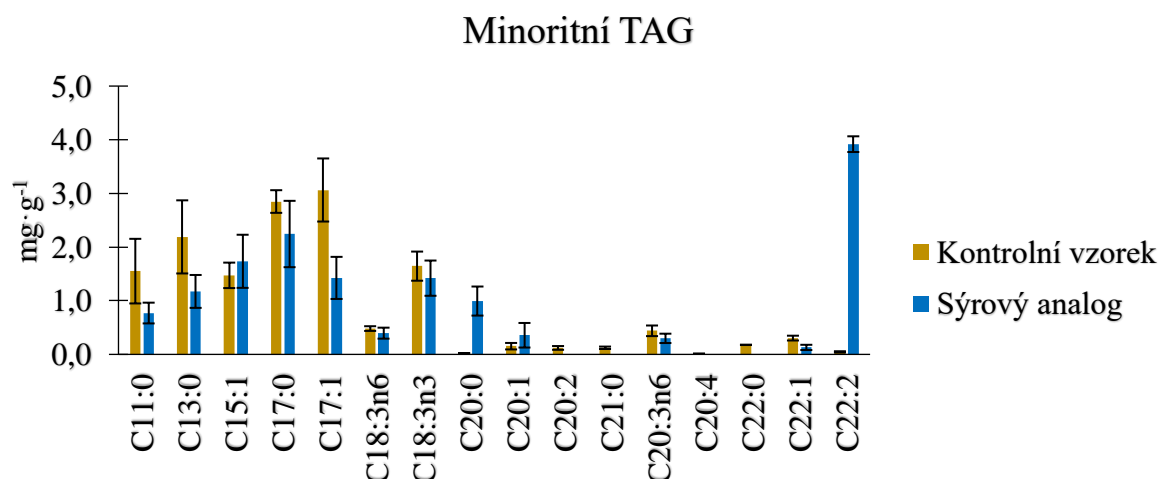


Graf 18: Srovnání celkového množství vázaných MK v modelových vzorcích.

Obsah jednotlivých identifikovaných MK je uveden v Grafech 19 a 20.



Graf 19: Obsah majoritních vázaných MK v modelových vzorcích.

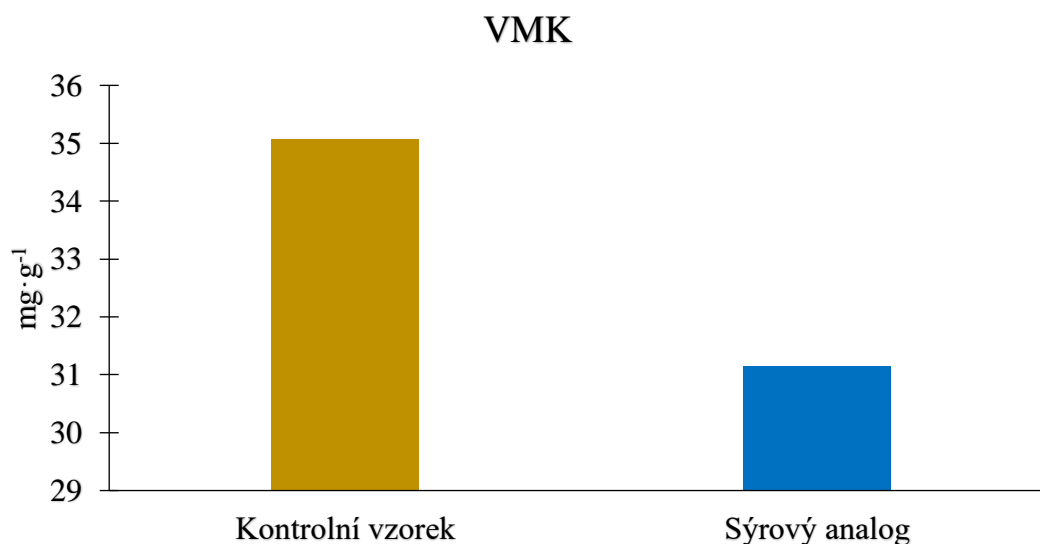


Graf 20: Obsah minoritních vázaných MK v modelových vzorcích.

Vzhledem k tomu, že obsah vázaných MK v sýrovém analogu byl výrazně nižší než v kontrolním vzorku, lze předpokládat, že docházelo k rychlejšímu, výraznějšímu odbourávání TAG v průběhu zrání. Přídavek ořechového oleje tedy pravděpodobně ovlivňuje průběh zrání analogů.

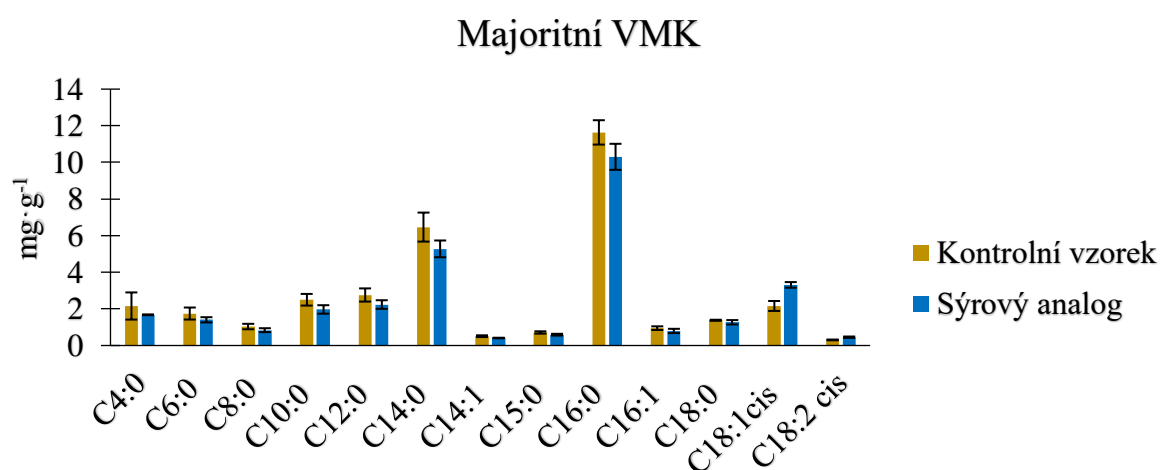
4.4.3 Srovnání obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích

Stejně jako TAG, byly i VMK vyjádřeny jako jejich hmotnost vztažená na množství vyextrahovaného tuku v $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Graf 21 uvádí srovnání celkového obsahu VMK.

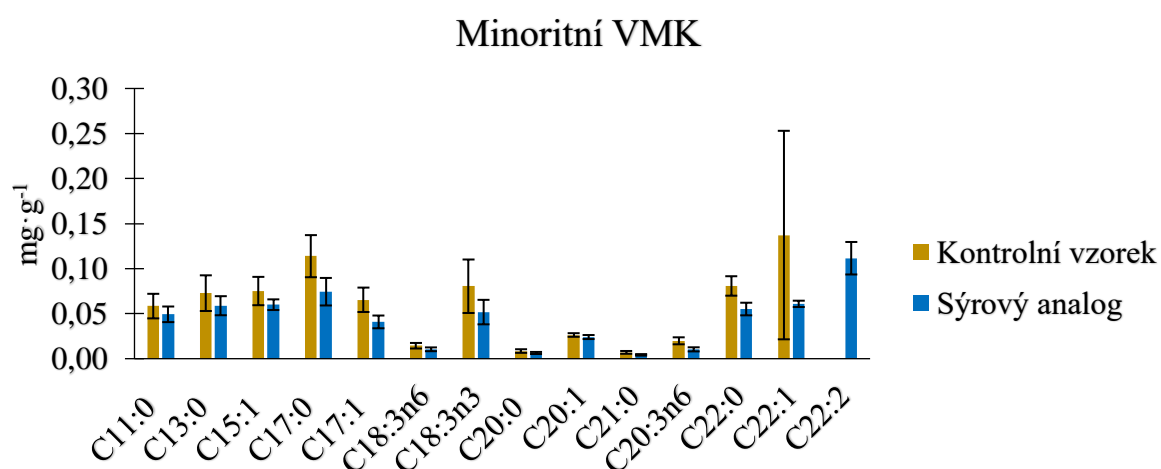


Graf 21: Srovnání celkového množství VMK v modelových vzorcích.

Jednotlivé VMK a jejich množství je znázorněno na Grafech 22 a 23.



Graf 22: Zastoupení hlavních VMK v modelových vzorcích.

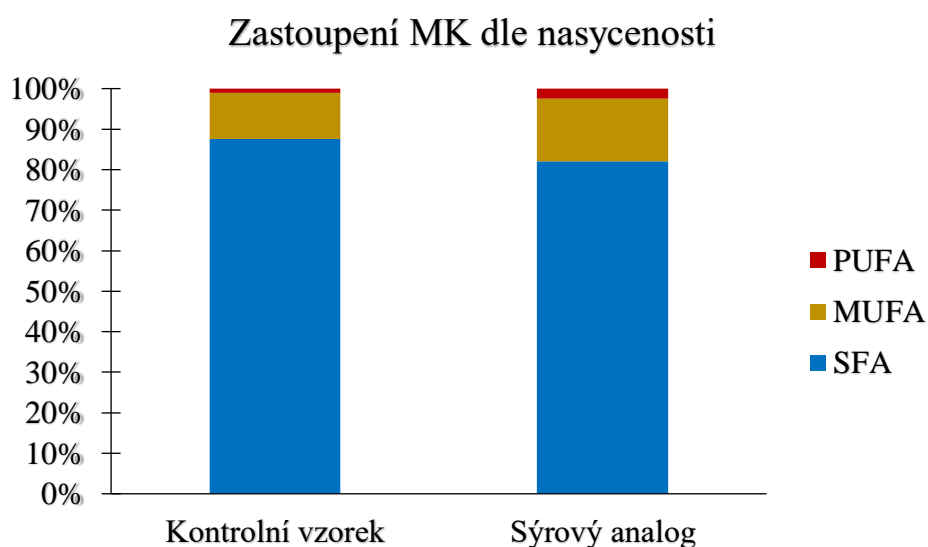


Graf 23: Zastoupení minoritních VMK v modelových vzorcích.

Překvapivě také obsah VMK v sýrovém analogu byl výrazně nižší než v kontrolním vzorku. VMK uvolněné v důsledku lipolýzy jsou během zrání sýrů důležitými prekursory aromaticky aktivních látek, na druhou stranu mohou podléhat tzv. oxidačnímu žluknutí za tvorby sensoricky nežádoucích sloučenin (některé aldehydy apod.). Z výsledků jednoznačně vyplývá, že přidavek ořechového oleje ovlivňuje průběh zrání a stabilitu produktu.

Výsledky mohou být částečně ovlivněny nízkou citlivostí použité metody pro MK s velmi dlouhým řetězcem (C20:0 a více), a mohlo dojít k problémům s jejich identifikací, nicméně vzhledem k jejich minimálnímu zastoupení ve vzorcích nemohou výrazně ovlivnit celkový výsledek.

Z hlediska celkového obsahu a zastoupení jednotlivých MK podle jejich nasycenosti pak sýrový analog obsahoval nižší množství nasycených MK (SFA), naopak mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) obsahoval vyšší množství než kontrolní vzorek (viz Graf 24).



Graf 24: Procentuální rozdělení obsahu všech MK dle jejich nasycenosti v modelových vzorcích.

Stěžejní je pro tuto práci výsledek zastoupení MK dle jejich nasycenosti, protože v sýrovém analogu je jasný vyšší podíl MUFA i PUFA oproti kontrolnímu vzorku, což ukazuje na přidanou hodnotu převzatou z použitého oleje.

4.5 Senzorická kvalita modelových vzorků sýrů/analogů

Vyrobené modelové vzorky byly zároveň podrobeny sensorickému hodnocení. Vzhledem k tomu, že se jednalo o první vyrobené, v zásadě zkušební vzorky, bylo jich vyrobeno jen omezené množství, a bylo tedy v této fázi provedeno jednoduché, orientační sensorické hodnocení, zaměřené především na chutnost a celkovou přijatelnost vyrobených vzorků a zda a jakým způsobem přidaný ořechový olej ovlivňuje sensorický charakter produktu.

Sensorické hodnocení probíhalo v kolektivu pěti hodnotitelů „expertů“, ukázka připravených vzorků je na Obrázku 11.

Sledovanými parametry, které byly jednoduše porovnávány se standardem (lepší/horší), byly vzhled a barva na řezu, konzistence (textura), vůně a chuť. V rámci hodnocení chuti a vůně byla zvláště hodnocena intenzita a příjemnost chuti/vůně po použití oleji pomocí jednoduchých stupnic. Hodnotitelé měli možnost blíže popsat důvody svého hodnocení. Hlavní důraz byl kladen na celkovou přijatelnost vzorku, použitý formulář pro senzorické hodnocení je uveden v Příloze 1.

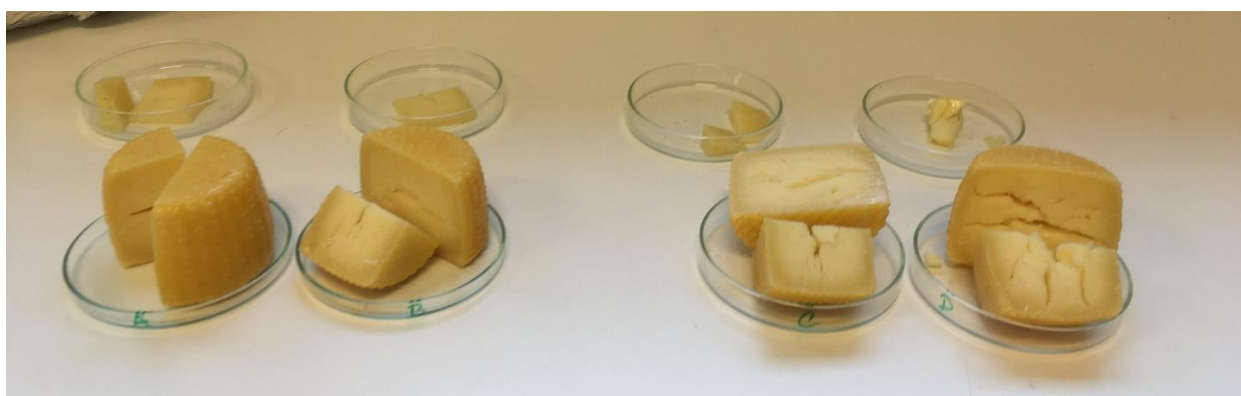
Jako standard optimální senzorické kvality byl v obchodním řetězci zakoupen sýr typu eidam s 30 % t. v s. Požadované senzorické vlastnosti kvalitního eidamského sýra lze shrnout takto (viz podkap. 2.7.4):

Barva a vzhled – čistý, hladký povrch bez poškozených míst, barva na řezu smetanová až sýrově žlutá, tvar pravidelný, vyrovnaný s mírně vypouklými stranami.

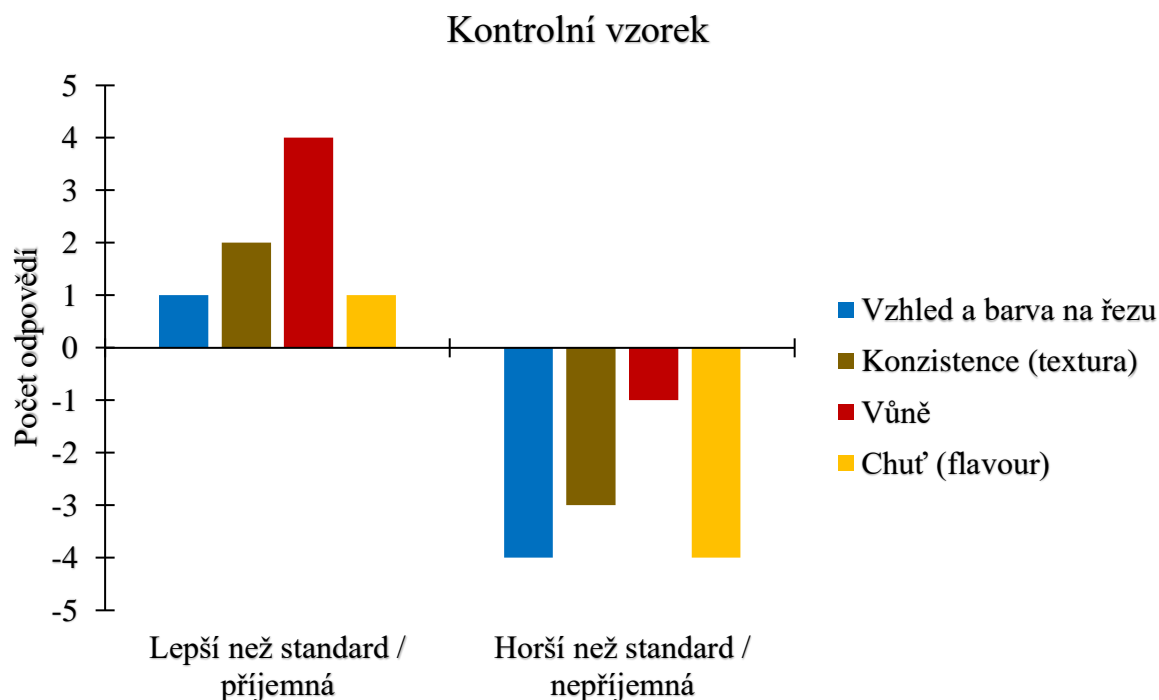
Konzistence – celistvá, vláčná, pružná. U sýrů, které mají obsah tuku v sušině 30 %, je konzistence tužší, polotvrdá. Na řezu je menší počet ok, příp. žádná oka, mírné provzdušnění není na závadu.

Chuť a vůně – výrazná, sýrově mléčně jemná s mírně hořkomandlovou nebo čistě mléčně nakyslou příchutí [46].

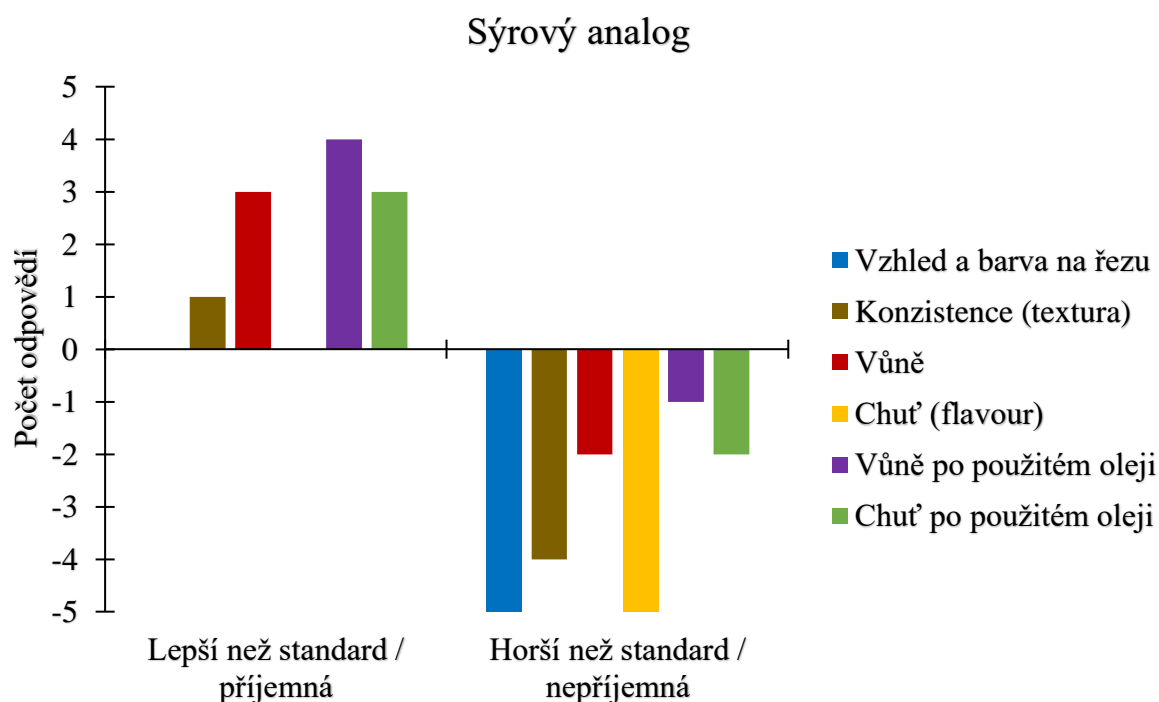
Výsledky jsou prezentovány graficky (Graf 25 až 33), na ose y je vždy příslušný počet odpovědí hodnotitelů. Bližší popis názorů hodnotitelů je uveden v Tabulce 14.



*Obrázek 14: Sada modelových vzorků analogů, zleva kódová označení A–D.
(A) – kontrolní vzorek, (C) – sýrový analog s lískoořechovým olejem.*



Graf 25: Srovnání senzorické kvality kontrolního vzorku a standardu.



Graf 26: Srovnání senzorické kvality sýrového analogu a standardu.

V Grafech 25 a 26 je uvedeno srovnání jednotlivých vlastností vzorků (analog a kontrolní vzorek) se standardem (komerční eidam).

Vzhled a barva obou vzorků byly hodnoceny jednoznačně jako horší než standard, na řezu měly oba modelové vzorky nerovnoměrnou, respektive netypickou barvu, nepravidelná oka a popraskaný vzhled (Graf 27).

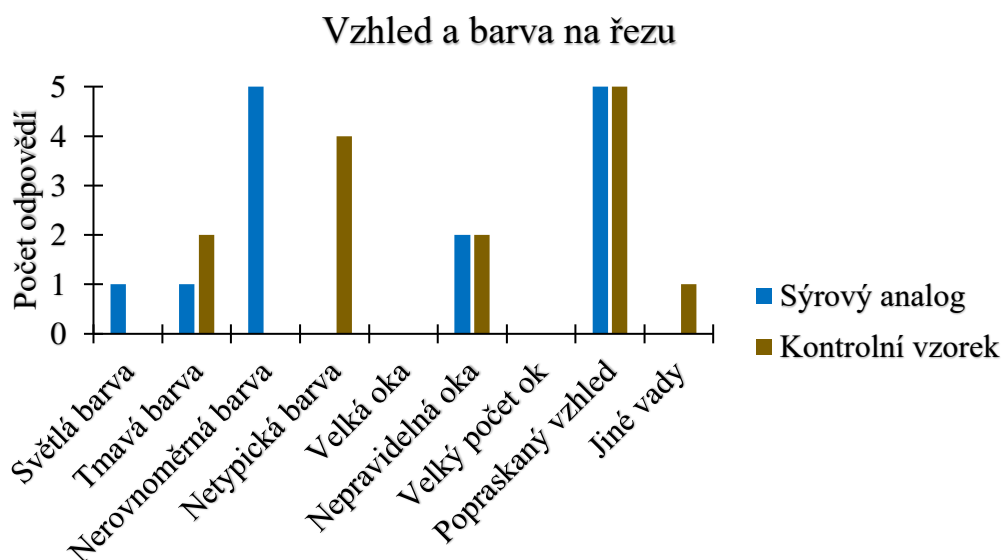
Konzistence analogu byla hodnocena hůře než standard, u kontrolního vzorku nebylo hodnocení jednoznačné, dva hodnotitelé uvedli konzistenci lepší než standard. Konzistence byla vesměs hodnocena jako příliš tuhá, nestejnorodá, hrudkovitá, suchá a drobivá (Graf 28).

Vůně kontrolního vzorku byla hodnocena jako lepší než standard, dokonce i u sýrového analogu tři hodnotitelé uvedli toto hodnocení. Hodnotitelé uváděli vlastnosti jako výraznější, příjemně kyselá, jemně kyselá nebo příjemné aroma. U sýrového analogu jeden hodnotitel uvedl výraznější a zajímavou vůni, pouze jeden hodnotitel uvedl vůni nepříjemnou (Graf 29).

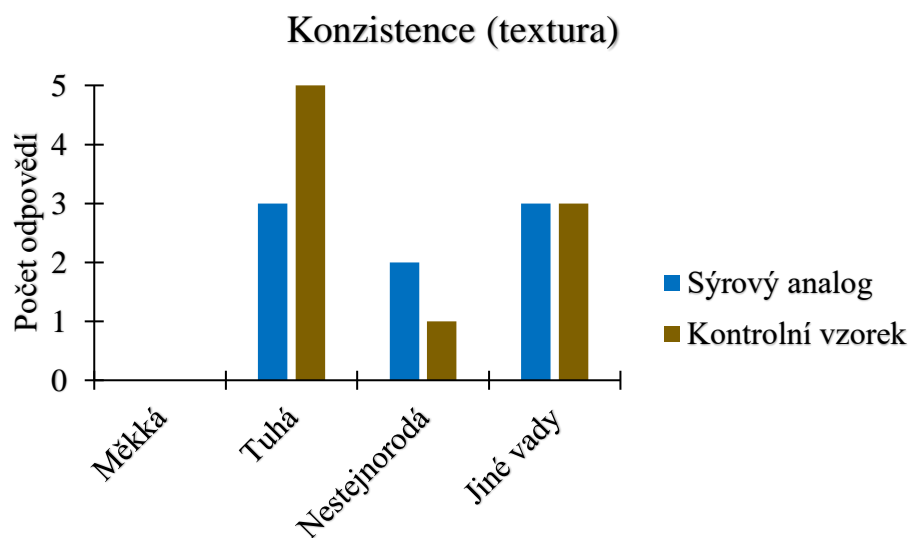
Také chuť byla hodnocena jako horší než standard, u obou vzorků byl nejčastěji uváděnou vadou nedostatek soli.

V případě sýrového analogu byla chuť a vůně po použití oleji hodnocena vesměs jako příjemná (Graf 26), pravděpodobně proto, že byla slabá až střední (Grafy 31 a 32), nicméně někteří hodnotitelé uváděli olejovitou pachut' (Graf 30).

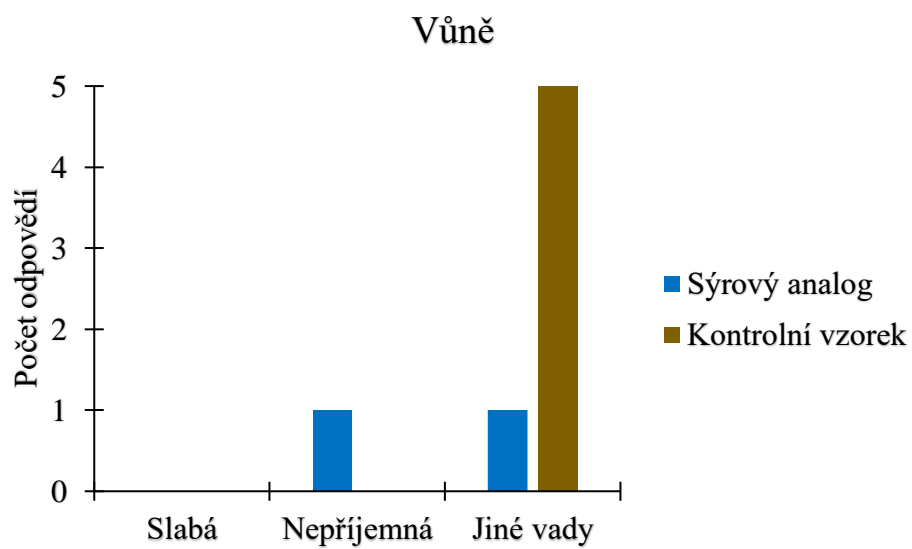
Celkově byly modelové vzorky hodnoceny jako méně dobré až dobré (Graf 33).



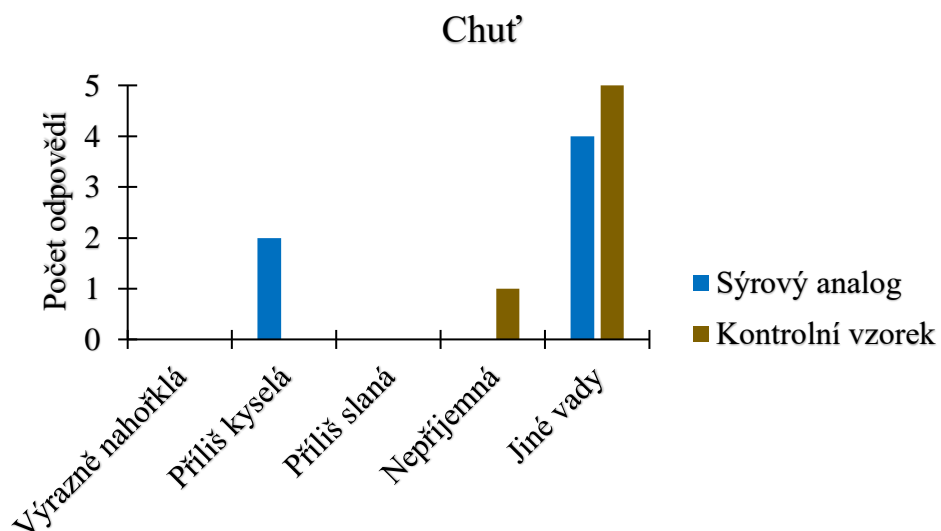
Graf 27: Jednotlivé parametry vzhledu a barvy na řezu modelových vzorků.



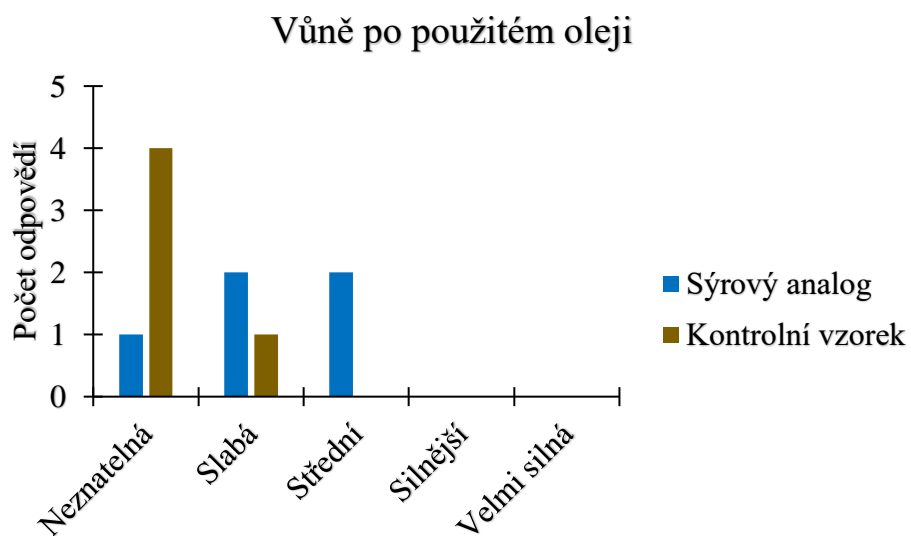
Graf 28: Parametry konzistence modelových vzorků.



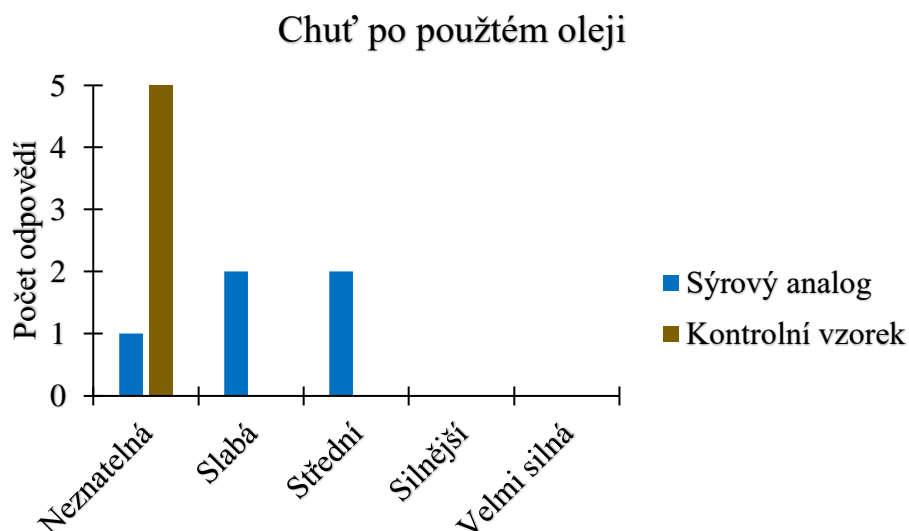
Graf 29: Vůně modelových vzorků.



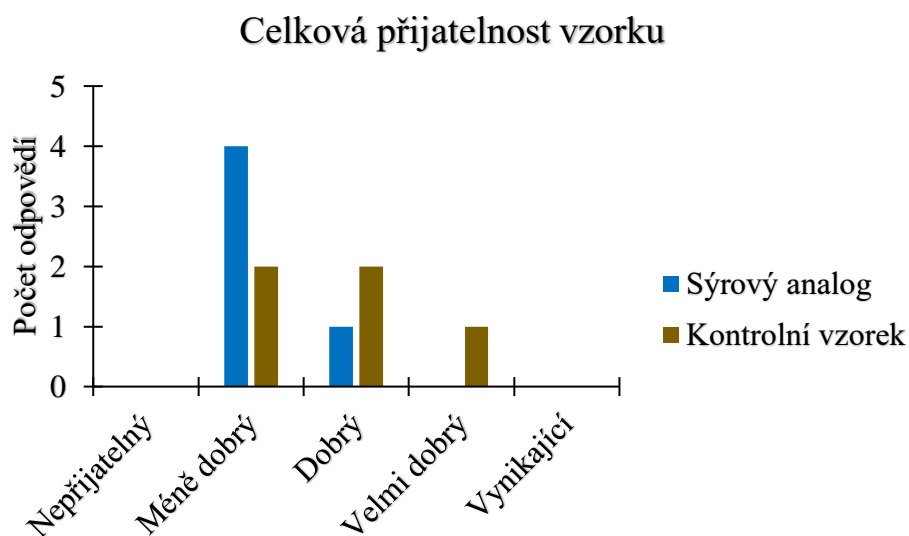
Graf 30: Chuť modelových vzorků.



Graf 31: Intenzita vůně po použitém oleji v modelových vzorcích.



Graf 32: Intenzita chuti po použitém oleji v modelových vzorcích.



Graf 33: Hodnocení celkové přijatelnosti modelových vzorků.

Ze všech sledovaných základních parametrů senzorické kvality byla pouze vůně modelových vzorků hodnocena jako lepší než standard. Ostatní parametry se jeví horší. V případě sýrového analogu byla navíc oproti standardu kladně hodnocena i chuť a vůně po použitém oleji, pouze jeden hodnotitel však detekoval ořechovou chuť.

Tabulka 14: Připomínky hodnotitelů ke konzistenci, vůni, chuti a celkové přijatelnosti modelových vzorků.

	Sýrový analog	Kontrolní vzorek
Konzistence (textura)	Suchá, drobivá, rozpadavá	Suchá, hrudkovitá, drolivá, slabě spojené zrno
Vůně	Příjemná, sladší, výrazná, nakyslá, zajímavá, nepříjemná olejovitá	Příjemná, plná, výraznější, kyselá, pikantní
Chuť	Málo soli, olejovitá pachut'	Sladší, nepříjemná, málo slaná
Celková přijatelnost	Vůně a barva v pořádku, špatná konzistence	Nevyhovující konzistence, sušší a drobivá, málo slaný, příjemná vůně

4.6 Struktura modelových vzorků sýrů/analogů

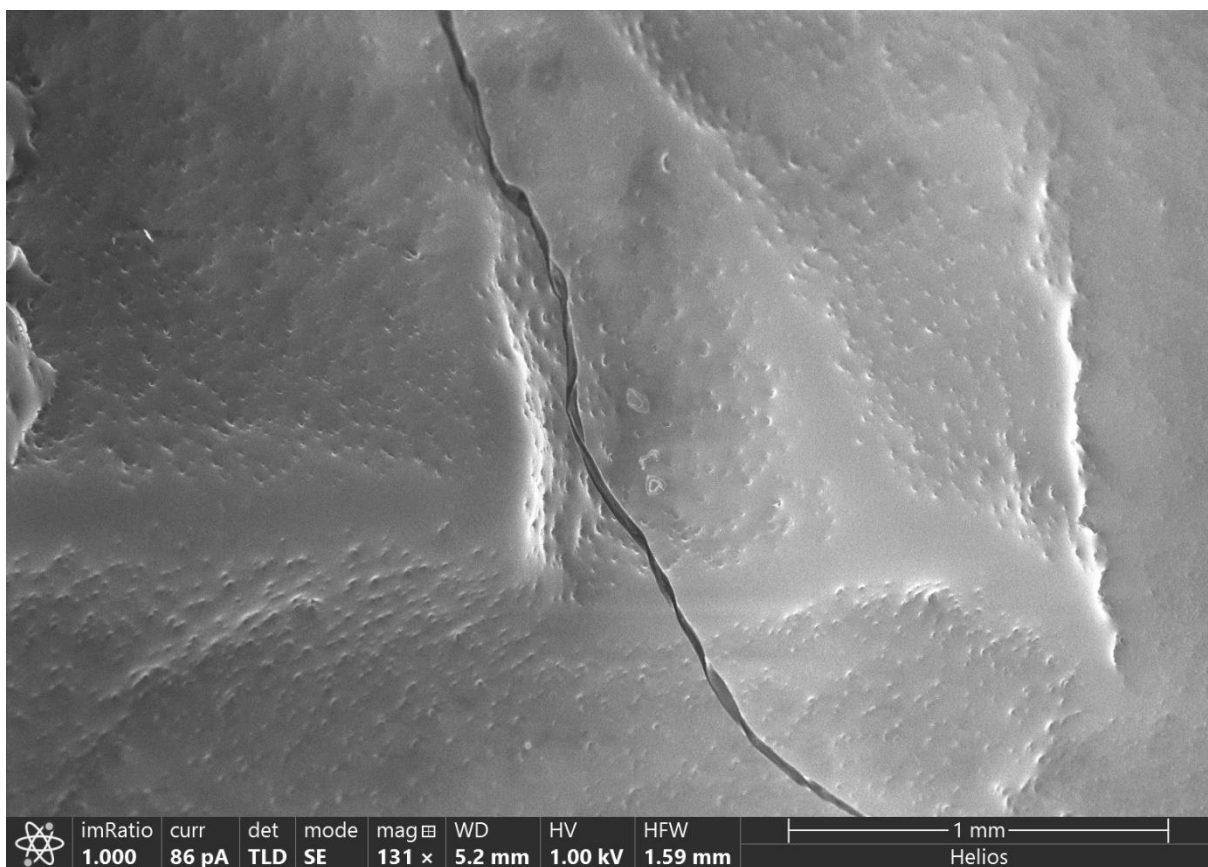
Pro lepší charakterizaci celkové senzorické kvality modelových vzorků byla, vedle hlavního cíle – stanovení MK a těkavých aromatických látek jako podstaty vůně a chuti, věnována pozornost i jejich textuře, resp. mikrostruktuře.

Z fyzikálního hlediska přírodní sýry představují složitý polydisperzní systém, ve kterém se vedle minoritních látek (soli, kyseliny, zbytky laktózy aj.), nachází především bílkoviny, tuk a voda. Způsob uspořádání těchto komponent tvoří strukturu (mikrostrukturu) sýra. Sýr může být jednoduše popsán jako trojrozměrná proteinová síť, v jejích pórech je zachycen přirozeně emulgovaný tuk, voda a ostatní látky. Celistvost sítě, složené ze vzájemně se překrývajících a zesíťovaných řetězců částečně spojených kaseinových agregátů, je udržována různými vazbami uvnitř a mezi agregáty, včetně hydrofobních a elektrostatických sil. Vlhkost je v sýru zachycena fyzikálními silami, především v důsledku kapilárního efektu proteinové matrice. Převážná část vápníku je v nerozpustné formě, jednak jako fosforečnan vápenatý navázaný na kaseinovou matici, jednak ve formě vápenatých mŕstků, které spojují molekuly parakaseinu [47].

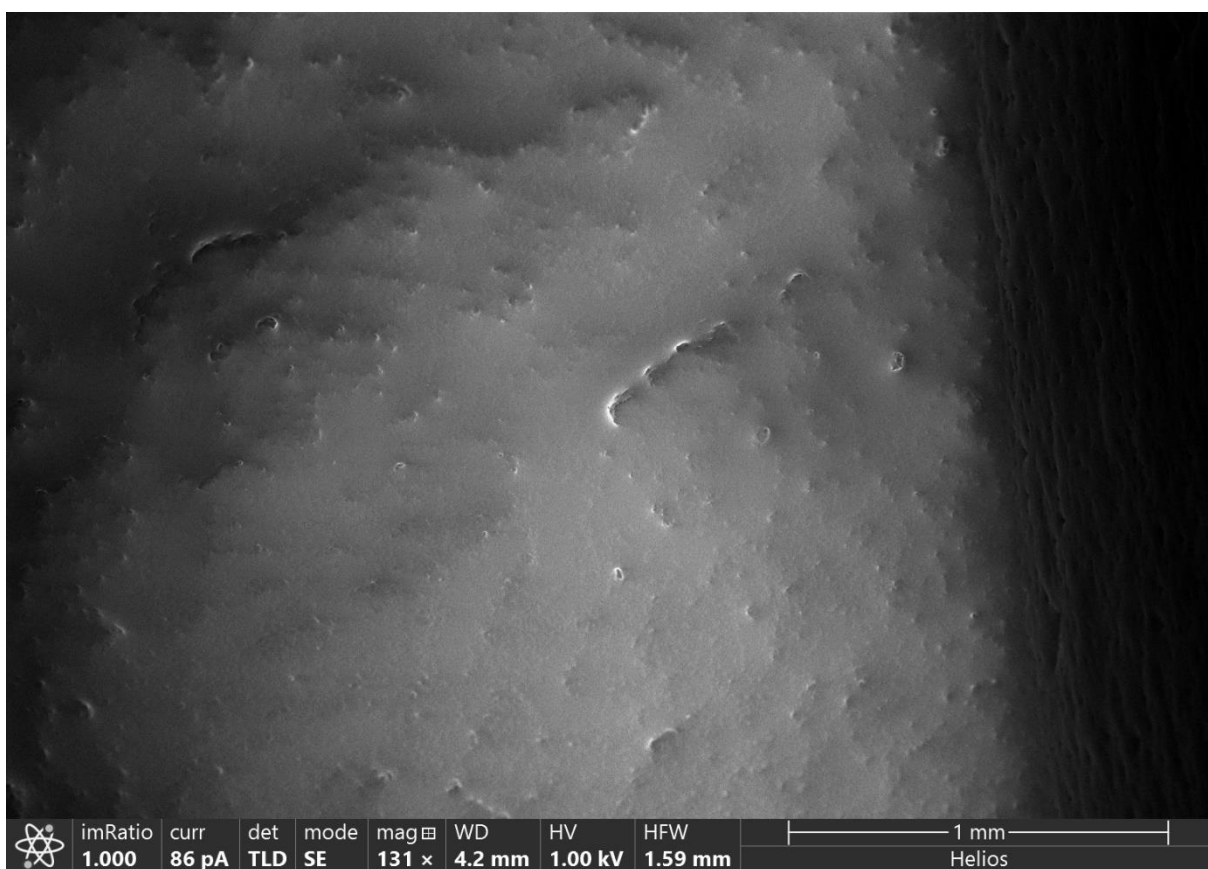
Mikrostruktura následně výrazně ovlivňuje texturní a funkční vlastnosti sýra jako tvrdost, měkkost, pružnost, elasticita apod.

Struktura modelových vzorků byla pozorována pomocí elektronové mikroskopie. Vzhledem k dostupným možnostem byly pořízeny snímky pouze povrchové struktury řezu, a to v měřítku 100–1000 μm . Oproti Kalábovi [50], který pořídil snímky v měřítku 1–10 μm , zde nebylo možné pozorovat detailní strukturu – tukové globule či kasein.

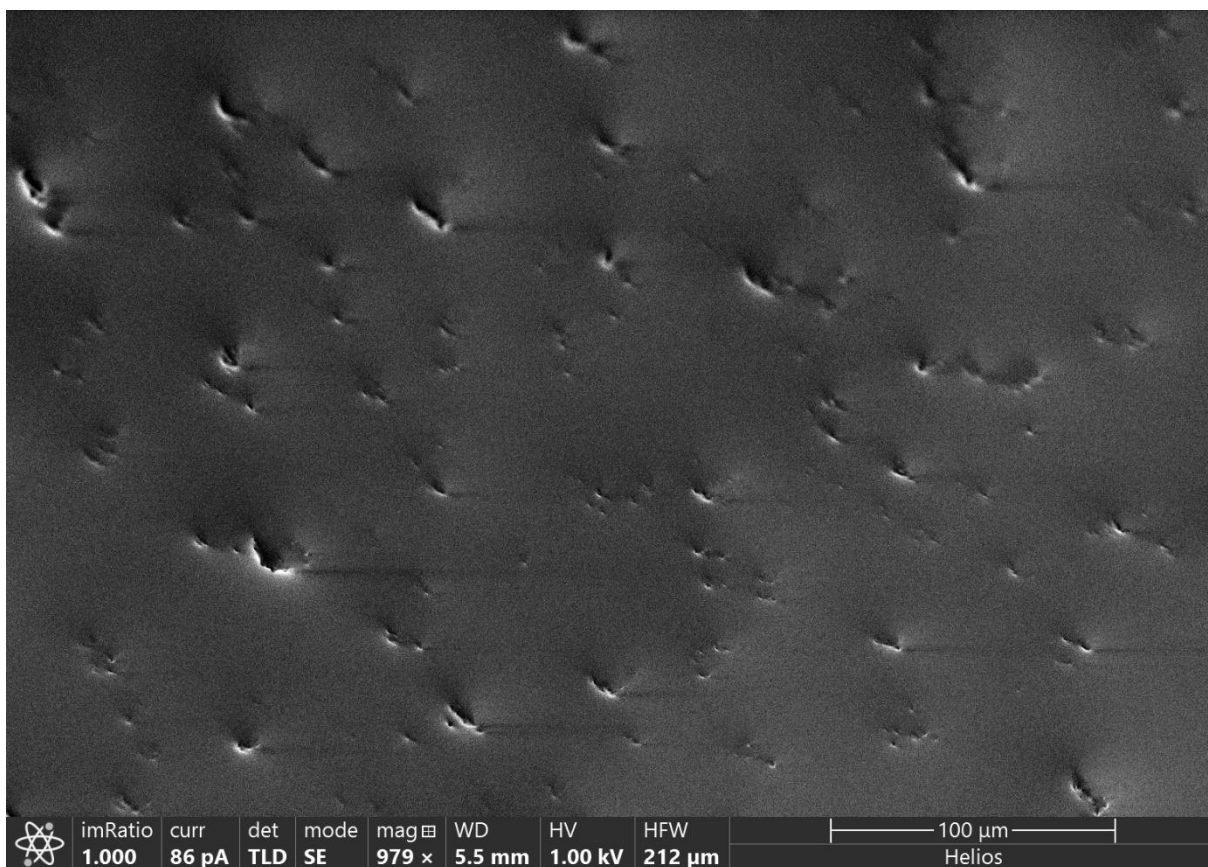
Pozorovaný preparát pocházel ze středu modelového vzorku.



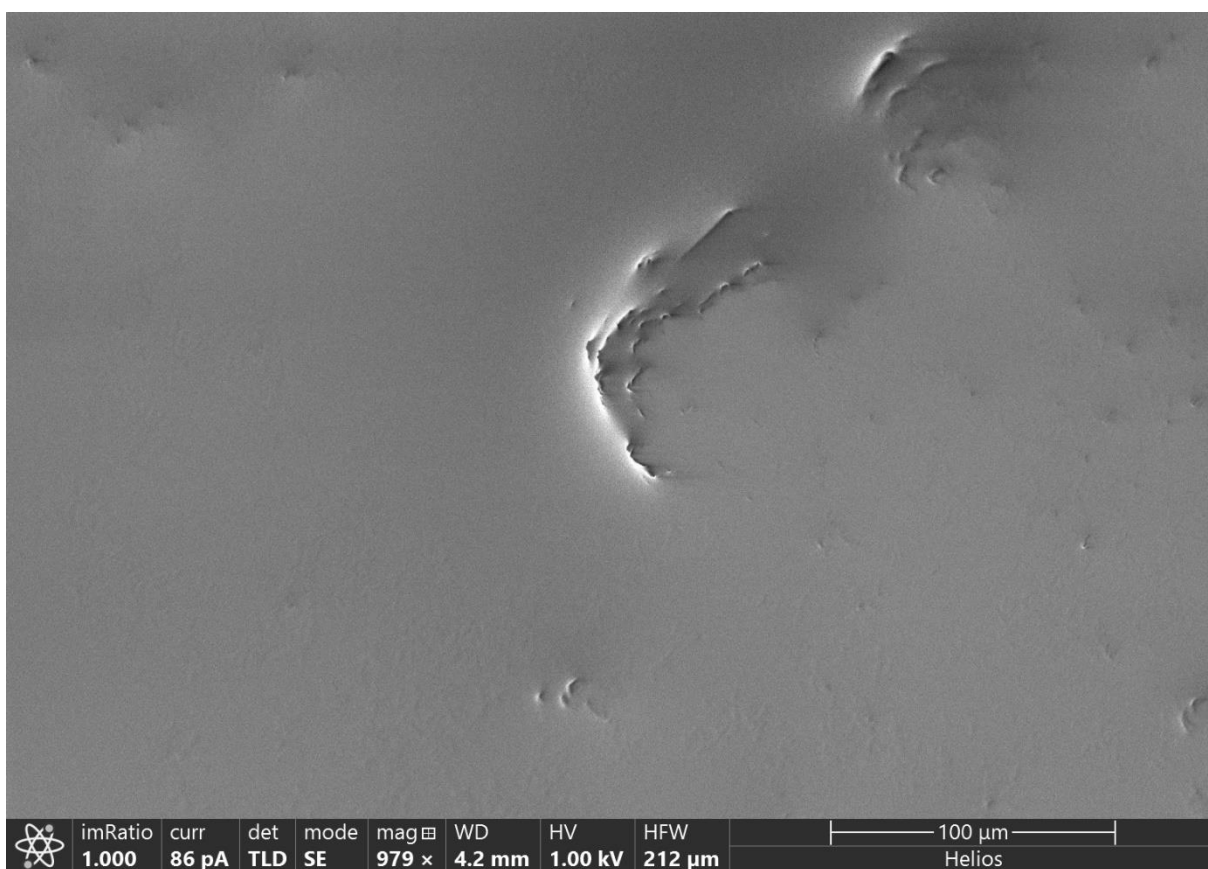
Obrázek 15: Snímek kontrolního vzorku v měřítku 1 mm.



Obrázek 16: Snímek sýrového analogu v měřítku 1 mm.



Obrázek 17: Snímek kontrolního vzorku v měřítku 100 μm.



Obrázek 18: Snímek sýrového analogu v měřítku 100 μm.

Porovnáním výše uvedených snímků je patrné, že mikrostruktura sýrového analogu se jeví jako hladší a kompaktnější oproti kontrolnímu vzorku. Je tedy jasné, že přidavkem oleje došlo ke změně struktury a teoreticky je možné, že tím u sýrového analogu došlo k vyhlazení povrchu a k lepšímu spojení sýrového zrna.

5 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo v první řadě vyrobit sýrový analog s přídavkem ořechového oleje. Pomocí ověření tukových charakteristik (především čísla kyselosti a peroxidového čísla) bylo zjištěno, že lískoořechový olej, použitý pro výrobu, je možné považovat za čerstvý. Ve spolupráci s Ústavem technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně byly vyrobeny modelové vzorky – kontrolní vzorek (suš. 68 %, t. v s. 54 %) a sýrový analog obsahující lískoořechový olej (suš. 76 %, t. v s. 61 %). Výrobní postup odpovídal klasické výrobě sýru s nízkodohřívanou sýřeninou.

Vzhledem k menšímu množství vyrobených a analyzovaných vzorků je obtížnější vyvozovat obecné závěry, nicméně i tak dosažené výsledky indikují některé zajímavé níže uvedené poznatky.

Pomocí metody HS-SPME-GC-MS byly identifikovány těkavé látky (srovnáním s knihovnami spekter) a z příslušných ploch píků byla provedena semikvantifikace. V sýrovém analogu bylo identifikováno větší množství i vyšší obsah těkavých látek, většina z nich byla již dříve identifikována v eidamských sýrech či ořechových olejích a potvrzena jako aromaticky aktivní. Jednalo se především o vyšší množství sensoricky významné kyseliny máselné, acetoinu a biacetylu, přičemž navíc byly v sýrovém analogu identifikovány látky hexanal, 3-methylbutan-1-ol, butylbutyrát a kyselina pentanová.

Z matrice vzorku byl následně extrahován tuk a byla provedena kyselá esterifikace MK s BF_3 jako katalyzátorem, čímž došlo k jejich derivatizaci na těkavé MEMK. Ty byly následně stanoveny metodou GC-FID. Srovnáním retenčních časů s retenčními časy standardů došlo k identifikaci jednotlivých MEMK a z ploch jednotlivých píků byla provedena kvantifikace vyjádřená jako obsah MK v množství vyextrahovaného tuku. Celkové množství VMK i TAG bylo vyšší v kontrolním vzorku. Z toho vyplývá, že přídavek ořechového oleje pravděpodobně ovlivňuje průběh zrání ve smyslu rychlejší lipolýzy, zároveň možná ovlivňuje stabilitu produktu – snižuje odolnost vůči oxidačnímu žluktutí. Tento problém by si zasloužil bližší zkoumání a bude mu věnována pozornost v následujících pracích.

Důležité je pro tuto práci zastoupení MK z hlediska jejich nasycenosti. Bylo prokázáno, že v sýrovém analogu se prokazatelně vyskytuje, i přes menší identifikované množství MK, vyšší zastoupení MUFA i PUFA. To naznačuje příznivý vliv přídavku lískoořechového oleje.

V neposlední řadě byla hodnocena sensorická kvalita modelových vzorků oproti komerčnímu vzorku sýra typu eidam. Komerční sýr měl deklarovaný obsah t. v s. 30 %, modelové vzorky obsahovaly > 50 % t. v s. Vyšší obsah tuku by měl mít pozitivní vliv na sensorickou kvalitu, přesto byly vyrobené vzorky shledány jako méně dobré až dobré, zejména kvůli nízkému obsahu soli a technologickým závadám, tedy popraskanému vzhledu, nestejněmbarvě a drobivé a suché konzistenci. Chuť a vůně po přidání oleje byly hodnoceny vesměs příznivě. Předpoklad o příznivém vlivu oleje na strukturu modelových vzorků byl podpořen snímky z elektronového mikroskopu.

Na závěr lze shrnout, že použití lískoořechového oleje k výrobě sýrových analogů mělo prokazatelně vliv na složení a sensorické vlastnosti finálního výrobku. Vzhledem k podobnému hodnocení obou vzorků však nelze horší sensorickou kvalitu připisovat pouze přidání oleje, ale také použité technologii. Vhodnou optimalizací výrobního postupu by bylo možné dosáhnout sensoricky přijatelného výrobku. K bodům, které bude potřeba optimalizovat, určitě

patří množství přidávaného oleje, použití lisu k lepšímu spojení sýrového zrna, zvýšení obsahu soli, či úprava doby zrání.

6 SEZNAM LITERÁRNÍCH ZDROJŮ

- 1 BACHMANN, Hans-Peter. Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal*. 2001, **11**(4-7), 505-515. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00073-5. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694601000735>.
- 2 CHAVAN S., Rupesh a Atanu JANA. Cheese substitutes: an alternative to natural cheese: a review. *International Journal of Food Science, Technology & Nutrition*. 2007, **2** (2007)(2), 25-39. Dostupné také z: <https://www.researchgate.net/publication/265023036>.
- 3 GUINEE, T.P. Cheese | Cheese Analogues. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, 2011, 2011, 814-821. DOI: 10.1016/B978-0-12-374407-4.00096-0. ISBN 9780123744074. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123744074000960>.
- 4 BADEM, Abdullah a Gurkan UCAR. A new cheese type: cheese analogues. In: *International congress on food of animal origin* [online]. 2016, 2016, s. 97-98 [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/339106499_A_new_cheese_type_cheese_analogues.
- 5 Y. TAMIME, Adnan, ed. *Processed cheese and analogues*. 1. United Kingdom: Blackwell Publishing, 2011. ISBN 978-1-4051-8642-1.
- 6 FATHI ACHACHLOUEI, Bahram a Javad HESARI. Production of functional cheese by replacement of dairy fat with hazelnut oils. In: *Production of functional cheese by replacement of dairy fat with hazelnut oils* [online]. 2018 [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/327954466_Production_of_functional_cheese_by_replacement_of_dairy_fat_with_hazelnut_oils.
- 7 KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. 1. Ostrava: Key Publishing, 2012. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-145-0.
- 8 MARILLEY, L. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*. 2004, **90**(2), 139-159. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00304-0. ISSN 01681605. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160503003040>.
- 9 Figure 8 Mechanically operated prepressing vat with unloading and cutting device. In: *Buffalo brewing blog* [online]. 2013 [cit. 2020-02-12]. Dostupné z: <https://www.buffalobrewingstl.com/beverage-fermentation/info-wik.html>.
- 10 TZOMPA SOSA, Daylan Amelia. *MILK FAT TRIACYLGLYCEROLS: Their variability, relations with fatty acids, DGAT1, β polymorphs and melting fractions*. Wageningen, Holandsko, 2016. Disertační práce. Wageningen University.
- 11 VAN VALENBERG, H.J.F., K.A. HETTINGA, J. DIJKSTRA, H. BOVENHUIS a E.J.M. FESKENS. Concentrations of n-3 and n-6 fatty acids in Dutch bovine milk fat and their contribution to human dietary intake. *Journal of Dairy Science*. 2013, **96**(7), 4173-4181. DOI: 10.3168/jds.2012-6300. ISSN 00220302. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213003366>.
- 12 VILLENEUVE, M.-P., Y. LEBEUF, R. GERVAIS, G.F. TREMBLAY, J.C. VUILLEMARD, J. FORTIN a P.Y. CHOUINARD. Milk volatile organic compounds and fatty acid profile in cows fed timothy as hay, pasture, or silage. *Journal of Dairy*

- Science*. 2013, **96**(11), 7181-7194. DOI: 10.3168/jds.2013-6785. ISSN 00220302. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213006206>.
- 13 ALEWIJN, M., E.L. SLIWINSKI a J.T.M. WOUTERS. Production of fat-derived (flavour) compounds during the ripening of Gouda cheese. *International Dairy Journal*. 2005, **15**(6-9), 733-740. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.09.009. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694604002821>.
 - 14 VAN LEUVEN, I., T. VAN CAELENBERG, P. DIRINCK a J.T.M. WOUTERS. Aroma characterisation of Gouda-type cheeses. *International Dairy Journal*. 2008, **18**(8), 790-800. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.01.001. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694608000046>.
 - 15 ALEWIJN, M., B.A. SMIT, E.L. SLIWINSKI a J.T.M. WOUTERS. The formation mechanism of lactones in Gouda cheese. *International Dairy Journal*. 2007, **17**(1), 59-66. DOI: 10.1016/j.idairyj.2006.01.002. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694606000288>.
 - 16 JO, Y., D.M. BENOIST, A. AMEERALLY, M.A. DRAKE a Olivia MCAULIFFE. Sensory and chemical properties of Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*. 2018, **101**(3), 1967-1989. DOI: 10.3168/jds.2017-13637. ISSN 00220302. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217311839>.
 - 17 CAVANAGH, Daniel, Kieran N. KILCAWLEY, Maurice G. O'SULLIVAN, Gerald F. FITZGERALD a Olivia MCAULIFFE. Assessment of wild non-dairy lactococcal strains for flavour diversification in a mini-Gouda type cheese model. *Food Research International*. 2014, **62**(8), 432-440. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.03.043. ISSN 09639969. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996914002129>.
 - 18 IYER, Meena, T. RICHARDSON, C.H. AMUNDSON a R.C. TRIPP. Major Free Fatty Acids in Gouda Cheese. *Journal of Dairy Science* [online]. 1967, **50**(3) [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(67)87428-9. ISSN 00220302. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030267874289>.
 - 19 HICKEY, Dara K., Kieran N. KILCAWLEY, Tom P. BERESFORD a Martin G. WILKINSON. Starter Bacteria Are the Prime Agents of Lipolysis in Cheddar Cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2006, **54**(21), 8229-8235 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1021/jf060819h. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf060819h>.
 - 20 LOPEZ, Christelle, Marie-Bernadette MAILLARD, Valerie BRIARD-BION, Benedicte CAMIER a John A. HANNON. Lipolysis during Ripening of Emmental Cheese Considering Organization of Fat and Preferential Localization of Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2006, **54**(16), 5855-5867 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1021/jf060214l. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf060214l>.
 - 21 TOPKAFA, Mustafa, Hamide Filiz AYYILDIZ a Huseyin KARA. Hazelnut (Corylus avellana) Oil. *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*. Cham: Springer International Publishing, 2019, 2019-05-09, , 223-241. DOI: 10.1007/978-3-030-12473-1_10. ISBN 978-3-030-12472-4. Dostupné také z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-12473-1_10.
 - 22 MASSON, P., F. MEROT a J. BARDOT. Influence of hazelnut oil phospholipids on the skin moisturizing effect of a cosmetic emulsion. *International Journal of Cosmetic*

- Science*. 1990, **12**(6), 243-251. DOI: 10.1111/j.1467-2494.1990.tb00539.x. ISSN 0142-5463. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1467-2494.1990.tb00539.x>.
- 23 JOKIC, Stela, Tihomir MOSLAVAC, Krunoslav ALADIC, Mate BILIC, Djurdjica ACKAR a Drago SUBARIC. Hazelnut oil production using pressing and supercritical CO₂ extraction. *Hemijska industrija*. 2016, **70**(4), 359-366. DOI: 10.2298/HEMIND150428043J. ISSN 0367-598X. Dostupné také z: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0367-598X1500043J>.
 - 24 ÇAKALOĞLU, Büşra, Vasfiye Hazal ÖZYURT a Semih ÖTLEŞ. Cold press in oil extraction. A review. *Ukrainian Food Journal*. 2018, **7**(4), 640-654. DOI: 10.24263/2304-974X-2018-7-4-9. ISSN 2304974X. Dostupné také z: <http://nuft.edu.ua/doi/doc/ufj/2018/4/9.pdf>.
 - 25 LOPEZ-AVILA, V. a M.D. LUQUE DE CASTRO. Microwave-Assisted Extraction. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier, 2014, 2014. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.11172-2. ISBN 9780124095472. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095472111722>.
 - 26 LLOMPART, Maria, Carmen GARCIA-JARES, María CELEIRO a Thierry DAGNAC. Microwave-Assisted Extraction ☆. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier, 2018, 2018. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14442-7. ISBN 9780124095472. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095472144427>.
 - 27 YOUSUF, Owais, Palmei GAIBIMEI a Anupama SINGH. Ultrasound Assisted Extraction of Oil from Soybean. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2018, **7**(07), 843-852. DOI: 10.20546/ijcmas.2018.707.103. ISSN 23197692.
 - 28 RUTKOWSKA, Małgorzata, Jacek NAMIEŚNIK a Piotr KONIECZKA. Ultrasound-Assisted Extraction. *The Application of Green Solvents in Separation Processes*. Elsevier, 2017, 2017, 301-324. DOI: 10.1016/B978-0-12-805297-6.00010-3. ISBN 9780128052976. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128052976000103>.
 - 29 WONG, Shi Ting, Mei Ching TAN a Chin Hong GEOW. Optimization of ultrasound-assisted ethanol extraction of hazelnut oil. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2019, **43**(10). DOI: 10.1111/jfpp.14138. ISSN 0145-8892. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpp.14138>.
 - 30 FERNANDES, Gabriel D., Raquel B. GÓMEZ-COCA, María del Carmen PÉREZ-CAMINO, Wenceslao MOREDA a Daniel BARRERA-ARELLANO. Chemical Characterization of Major and Minor Compounds of Nut Oils: Almond, Hazelnut, and Pecan Nut. *Journal of Chemistry*. 2017, **2017**, 1-11. DOI: 10.1155/2017/2609549. ISSN 2090-9063. Dostupné také z: <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2017/2609549/>.
 - 31 OJEDA-AMADOR, Rosa M., Giuseppe FREGAPANE a María Desamparados SALVADOR. Chemical Characterization of Virgin Almond and Hazelnut Oils and Their By-Products. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2019, **121**(11). DOI: 10.1002/ejlt.201900114. ISSN 1438-7697. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejlt.201900114>.
 - 32 *REPORT OF THE 26th SESSION OF THE CODEX COMMITTEE ON FATS AND OILS* [online]. In: 2019, s. 1-63 [cit. 2020-03-08]. Dostupné z: <http://www.fao.org/fao->

- who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-709-26%252FREPORT%252FFinal%252520REP19%252FREP19_FOe_compiled.pdf.
- 33 BAIL, Stefanie, Gerald STUEBINGER, Heidrun UNTERWEGER, Gerhard BUCHBAUER a Sabine KRIST. Characterization of volatile compounds and triacylglycerol profiles of nut oils using SPME-GC-MS and MALDI-TOF-MS. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2009, **111**(2), 170-182. DOI: 10.1002/ejlt.200800007. ISSN 14387697. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ejlt.200800007>.
 - 34 ŞİŞİK OĞRAŞ, Şeyma, Güzin KABAN a Mükerrerem KAYA. Ham ve Rafine Fındık Yağlarının Uçucu Bileşikleri ve Yağ Asidi Kompozisyonu. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. , 104-110. DOI: 10.17097/ataunizfd.392547. ISSN 1300-9036. Dostupné také z: <http://dergipark.gov.tr/doi/10.17097/ataunizfd.392547>.
 - 35 CAJA, M. M., M.L. RUIZ DEL CASTILLO, R. MARTÍNEZ ALVAREZ, M. HERRAIZ a G. P. BLANCH. Analysis of volatile compounds in edible oils using simultaneous distillation-solvent extraction and direct coupling of liquid chromatography with gas chromatography. *European Food Research and Technology*. 2000, **211**(1), 45-51. DOI: 10.1007/s002170050587. ISSN 1438-2377. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s002170050587>.
 - 36 LUBES, Giuseppe a Mohammad GOODARZI. Analysis of Volatile Compounds by Advanced Analytical Techniques and Multivariate Chemometrics. *Chemical Reviews*. 2017, **117**(9), 6399-6422. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00698. ISSN 0009-2665. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.6b00698>.
 - 37 ZACHARIS, Constantinos K. a Paraskevas D. TZANAVARAS. Solid-Phase Microextraction. *Molecules*. 2020, **25**(2). DOI: 10.3390/molecules25020379. ISSN 1420-3049. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/2/379>.
 - 38 Volatile Organic Compounds (VOC) Analysis. <https://www.thermofisher.com/> [online]. [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/industrial/environmental/environmental-learning-center/contaminant-analysis-information/volatile-organic-compounds-analysis.html>.
 - 39 PRÍBELA, Alexander. Analýza potravín: cvičenie. 2. vyd. Bratislava: STU, 1991. ISBN 80-227-0398-2.
 - 40 LUQUE-GARCÍA, J.L a M.D LUQUE DE CASTRO. Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, **1034**(1-2), 237-242 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.02.020. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967304001992>.
 - 41 PRIEGOCAPOTE, F a M.D LUQUE DE CASTRO. Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: a convincing alternative for total fat isolation from bakery products. *Talanta* [online]. 2004, **1034**(1-2), 237-242 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1016/j.talanta.2004.05.020. ISSN 00399140. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914004002851>.
 - 42 DAVÍDEK, J. Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha: SNTL, 1977, 718 s.

- 43 ČSN EN ISO 1735. Sýry a tavené sýrové výrobky: Stanovení obsahu tuku – Gravimetrická metoda (Referenční metoda). Praha: Český normalizační institut, 2005.
- 44 BULDRA, M. Ověření opakovatelnosti metody stanovení volných mastných kyselin. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 33 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- 45 Peroxide value. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Peroxide_value.
- 46 KOURIMSKÁ, Lenka. *Principy Senzorické Analýzy: Zavádění nových metod rozborů a technologických postupů u prvovýrobců a zpracovatelů mléka*. Praha, 2008. Dostupné také z: http://www.uniconsulting.cz/download/ucebni-text/Zavadeni_novych_metod.pdf.
- 47 Rheology and Texture of Cheese. FOX, Patrick, Paul MCSWEENEY, Timothy COGAN a Timothy GUINEE. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. 1. Academic Press, 2004, s. 511–540. ISBN 9780122636530.
- 48 ŠUSTOVÁ, Květoslava. *Mlékárenské technologie: (návod do cvičení)*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. ISBN 978-80-7509-248-9.
- 49 Elektronová mikroskopie. *Společná laboratoř pro optiky* [online]. Olomouc [cit. 2020-03-13]. Dostupné z: http://jointlab.upol.cz/soubusta/OSYS/El_mikr/El_mikr.html.
- 50 KALÁB, Miloslav. Practical aspects of electron microscopy in dairy research. *Food structure: Scanning microscopy international* [online]. Chicago, USA, 1993, 1993, (12), 95-114 [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/275650885_Practical_aspects_of_electron_microscopy_in_dairy_research.
- 51 ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška Ministerstva zemědělství. In: *Sbírka zákonů*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2000, ročník 2000, částka 30, číslo 90. Dostupné také z: <https://www.sagit.cz/info/sb00090>.
- 52 ČSN 57 0107: *Metody zkoušení sýrů, tvarohů, krémů a pomazánek*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1965.
- 53 ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2019, 119/2019, číslo 274. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2019-274>.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

FID	plamenový ionizační detektor
GC	plynový chromatograf
HS	headspace uspořádání analýzy
MEMK	methylester mastné kyseliny
MK	mastná kyselina
MS	hmotnostní detektor
MUFA	mononenasycená mastná kyselina
PUFA	polynenasycená mastná kyselina
SD	směrodatná odchylka
SFA	nasycená mastná kyselina
SPME	mikroextrakce tuhou fází
TAG	triacylglycerol
VMK	volná mastná kyselina

8 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1 Ukázka formuláře pro senzorické hodnocení.
- Příloha 2 Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v kontrolním vzorku.
- Příloha 3 Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v sýrovém analogu.
- Příloha 4 Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v kontrolním vzorku.
- Příloha 5 Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v kontrolním vzorku.
- Příloha 6 Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v sýrovém analogu.
- Příloha 7 Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v sýrovém analogu.

9 PŘÍLOHY

Příloha 1: Ukázka formuláře pro senzorické hodnocení modelových vzorků.

Senzorické hodnocení analogů

Sýr Eidamská cihla 30 % (standard) – optimální vlastnosti

Vzhled: povrch čistý, uzavřený.

Vzhled na řezu: s menším počtem pravidelných ok nebo bez ok.

Barva na řezu smetanově až slámově žlutá, stejnorodá

Konzistence (textura) celistvá, pružná, u sýrů 30 % tvs tužší

Chut' a vůně charakteristická jemně sýrová, příjemně mléčně nakyslá, mírná hořkomandlová příchut'.

Kód vzorku

Vždy zakroužkujte Vaše odpovědi, příp. doplňte vlastním popisem

Vzhled a barva na řezu

Lepší/horší než standard

Proč?

Barva příliš světlá/tmavá, netypická, nerovnoměrná

Velká oka, nepravidelná oka, velký počet ok, popraskaný, jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

Konzistence (textura)

(hodnot'te zmáčknutím mezi prsty, potom v ústech při ukousnutí, žvýkání a polykání)

Lepší/horší než standard

Proč?

Příliš měkká/tuhá, nestejnorodá, jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

Vůně

Lepší/horší než standard

Proč?

Příloha 1: Ukázka formuláře pro senzorické hodnocení modelových vzorků, pokračování.

Příliš slabá, nepříjemná (popsat), jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

Vůně po použitém oleji

1. Neznatelná – slabá – střední – silnější - velmi silná
2. Příjemná - nepříjemná

Chut' (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

Lepší/horší než standard

Proč?

Výrazně nahořklá, příliš kyselá, příliš slaná, nepříjemná (popsat), jiná vada nebo příp. v čem je lepší než standard (popsat)

Chut' po použitém oleji

1. Neznatelná – slabá – střední – silnější - velmi silná
2. Příjemná - nepříjemná

Celková přijatelnost vzorku

Celkově byste vzorek hodnotili jako (berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti):

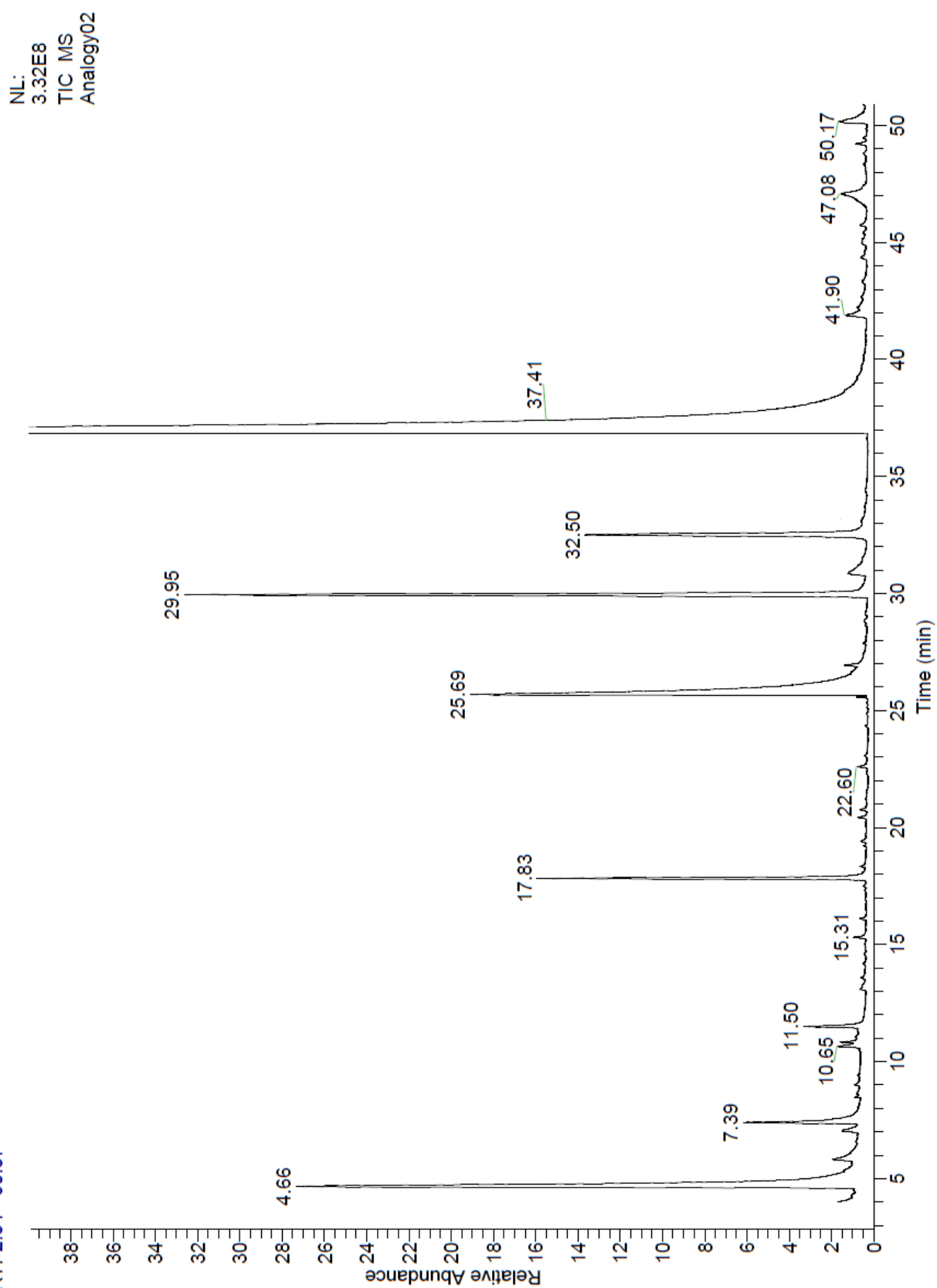
Nepřijatelný - méně dobrý - dobrý - velmi dobrý - vynikající

Proč?

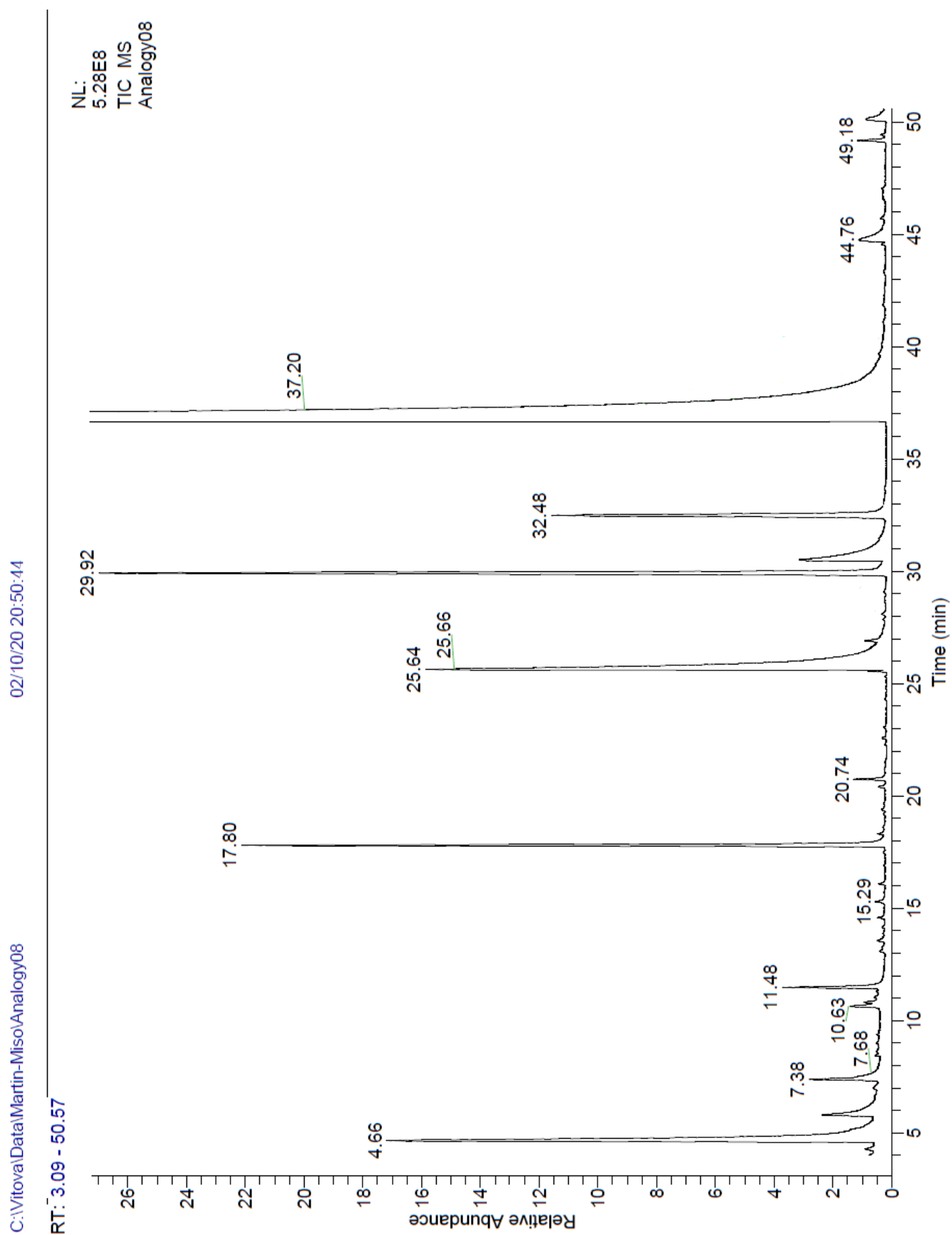
02/10/20 13:47:42



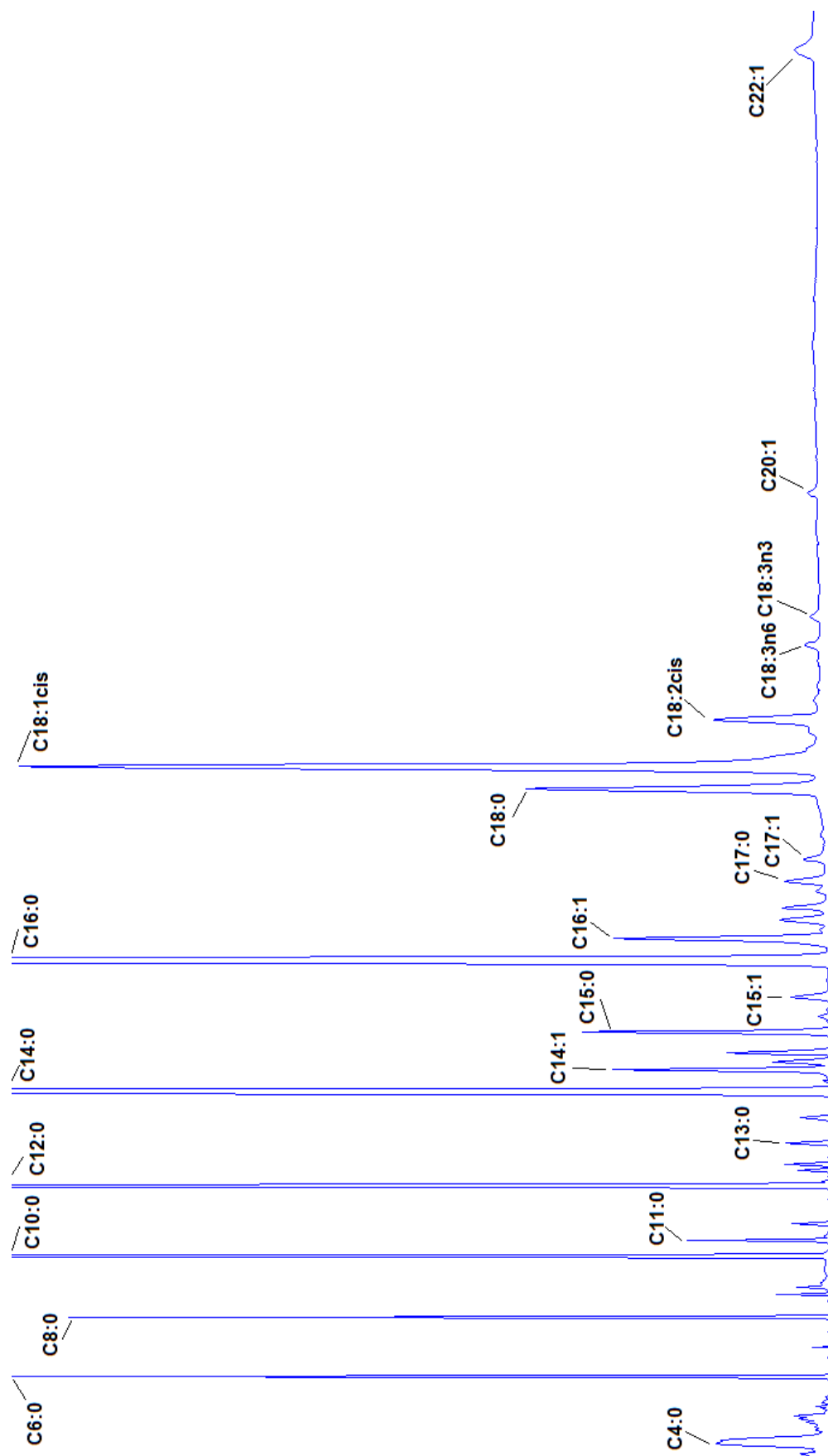
RT: 2.84 - 50.87



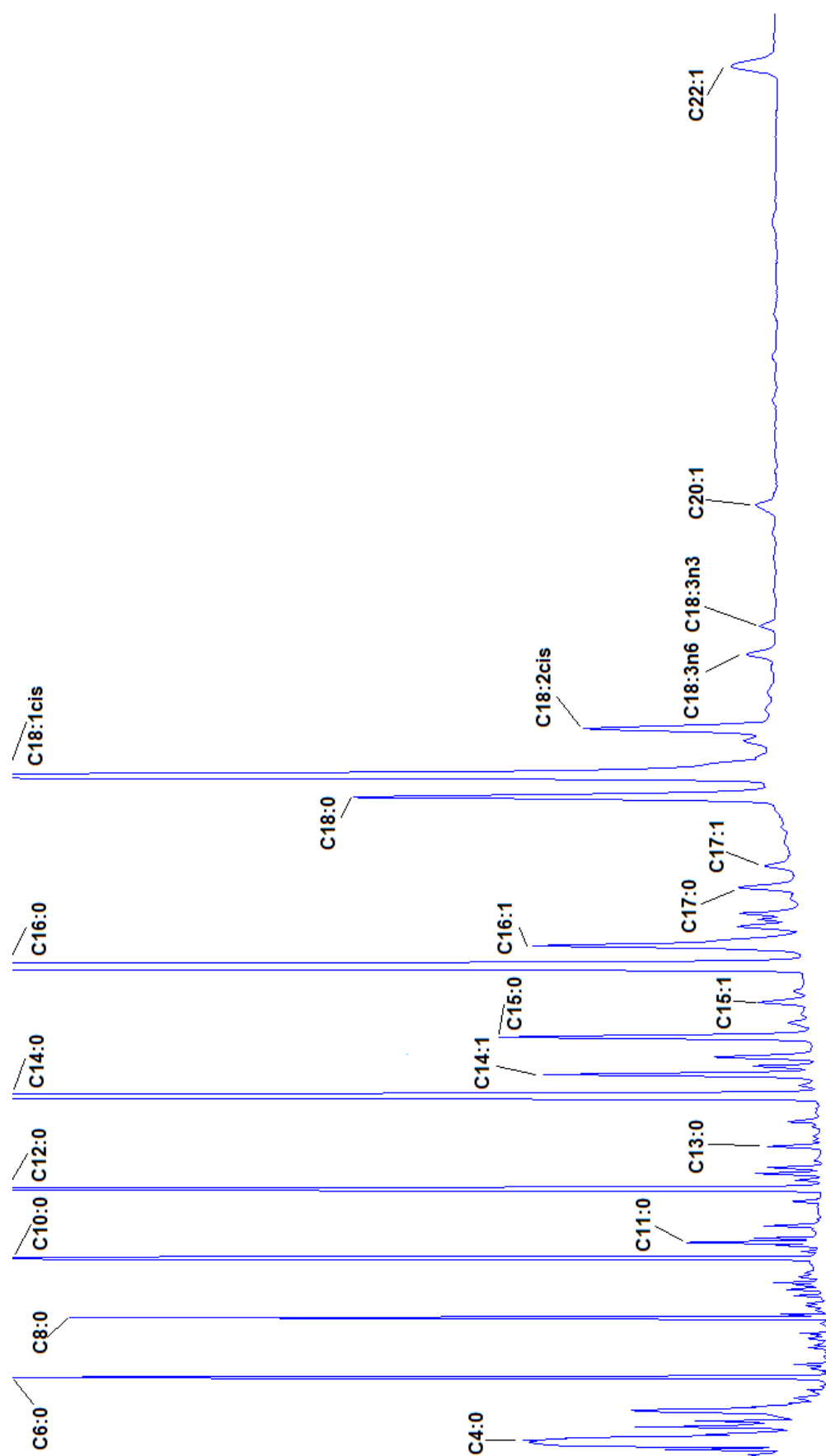
Příloha 3: Ukázka chromatogramu identifikovaných těkavých látek v sýrovém analogu;
identifikace sloučenin viz Tabulka 9.



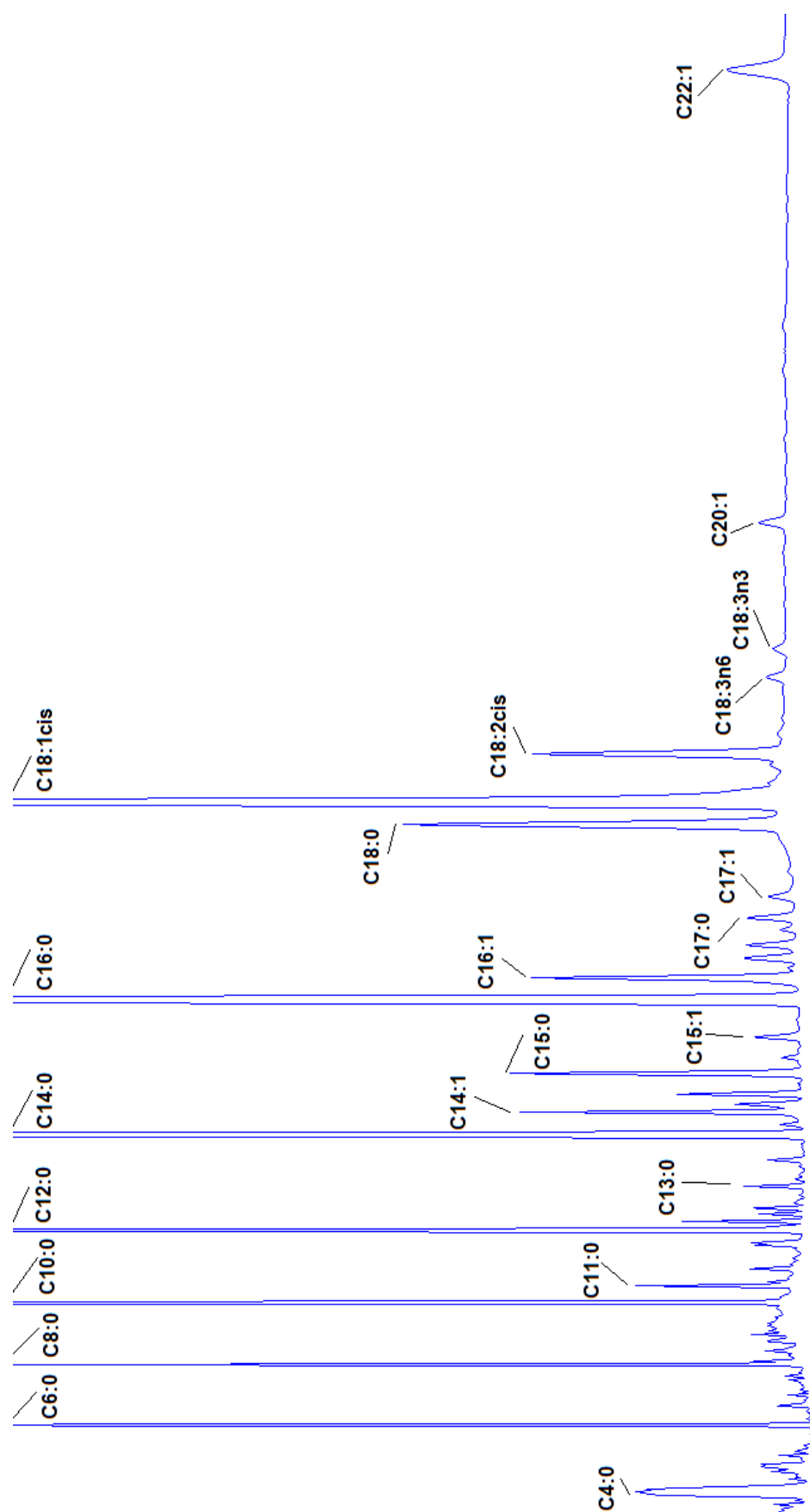
Příloha 4: Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v kontrolním vzorku.



Příloha 5: Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v kontrolním vzorku.



Příloha 6: Ukázka chromatogramu identifikovaných vázaných MK v sýrovém analogu.



Příloha 7: Ukázka chromatogramu identifikovaných VMK v sýrovém analogu.

